LAMBDA BIO/BIO+

Guía del usuario

PerkinElmer®

Historia de versiones

Número de pieza	Versión	Fecha de publicación
L6050016	D	Enero de 2014

Cualquier comentario sobre la documentación de este producto deberá enviarse a la siguiente dirección postal:

User Assistance
PerkinElmer Ltd
Chalfont Road
Seer Green
Beaconsfield
BUCKS
HP9 2FX
Reino Unido

o a la siguiente dirección electrónica: info@perkinelmer.com

Avisos
La información que contiene el presente documento está sujeta a cambios sin previo aviso.
Excepto lo específicamente dispuesto en sus términos y condiciones de venta, PerkinElmer no ofrece garantías de ninguna clase en lo que respecta al presente documento, incluidas, entre otras, las garantías implícitas de comerciabilidad e idoneidad para un fin determinado.
PerkinElmer rechaza toda responsabilidad por daños derivados de errores en este documento en relación con el suministro, prestaciones o uso de este material.

Información de copyright
Este documento contiene información patentada y protegida por copyright.
Todos los derechos reservados. Queda prohibida la reproducción de cualquier parte de la presente publicación en cualquier formato así como su traducción a cualquier idioma sin la previa autorización por escrito de PerkinElmer, Inc.

Copyright © 2014 PerkinElmer, Inc.

Marcas comerciales
Las marcas registradas y comerciales que se utilizan en el presente documento, aunque no aparezcan específicamente indicadas como tales, están protegidas por la ley.

PerkinElmer es marca registrada de PerkinElmer, Inc.

Tabla de Contenidos

Introducción 5
Acerca de este manual 6
Convenciones utilizadas en este manual 7
Notas, precauciones y advertencias 7
Información de seguridad 9
Seguridad general 10
Certificados de descontaminación 11
Sustancias químicas 11
Vapores tóxicos 11
Eliminación de residuos 11
Equipos de protección personal 12
Usuarios previstos 12
Desembalaje e instalación 13
Instalación del instrumento 15
Desembalaje 16
Conexión a la fuente de alimentación 17
Uso del instrumento 19
Descripción general del instrumento 20
Encendido del instrumento 22
Uso del software 23
Método y Favoritos 27
Opciones de carpetas 27
Opciones de métodos 31
Métodos del instrumento Lambda Bio/Bio+ 33
Utilidades 35
Fecha y Hora 36
Regional 36
Impresora 37
Preferencias 38
Contraste 39
Acerca de 39
Manipulación de las muestras 40
Métodos del instrumento 41
Longitud de Onda Simple 42
Longitud de Onda Múltiple 45
Barrido de Ondas 48
Concentración 53
Curva Estándar 58
Cinéticas 64
Razón de Absorbancia 69
Caracterización de ADN, ARN y oligonucleótidos 73
Introducción 73
ADN 75
ARN 79
Oligonucleótidos 82
Determinaciones de proteínas 86
Determinación de proteínas a 280 nm 86
Determinación de proteínas a 595, 546, 562 y 750 nm 87
Métodos de proteínas 88
Medición de absorbancia y concentración 98
Medición de cultivos celulares bacterianas (OD 600) 103

Accesorios 107
Accesorios y consumibles 108
Instalación y configuración de la impresora 109
Instalación de la impresora 109
Configuración de la impresora 110
Colocación o cambio del papel de impresora 111
Instalación del accesorio Bluetooth 112
Utilidad de impresión Lambda Bio/XLS 115
Mantenimiento 117
Mantenimiento general 118
Limpieza del instrumento 118
Almacenamiento y transporte 120
Apéndices 121
Apéndice 1: Especificaciones 122
Apéndice 2: Contacto con Atención al Cliente 123
Índice 125

Introducción

Acerca de este manual

En esta guía de usuario se describen los procedimientos de instalación y uso del espectrómetro Lambda Bio/Bio+ UV/Vis.

Este manual contiene las siguientes secciones:

- Introducción
- Información de seguridad
- Instalación del instrumento
- Uso del instrumento
- Métodos del instrumento
- Accesorios
- Mantenimiento
- Apéndices

Convenciones utilizadas en este manual

El texto normal se utiliza para proporcionar información e instrucciones.

El texto en **negrita** es texto que aparece visualizado en pantalla.

El texto en MAYÚSCULAS, por ejemplo INTRO o ALT, se refiere a teclas del teclado del ordenador. El símbolo «+» se utiliza para indicar que hay que pulsar dos teclas a la vez, por ejemplo ALT+F.

Todos los números de ocho dígitos son números de pieza PerkinElmer, salvo que se indique lo contrario.

Salvo que se indique lo contrario, el término «instrumento» se refiere en este manual al instrumento Lambda Bio o Lambda Bio+.

Notas, precauciones y advertencias

En los siguientes formatos estándar se utilizan además tres términos para destacar circunstancias especiales.

NOTA: Una nota indica información adicional importante para algunos procedimientos.

ADVERTENCIA

El término ADVERTENCIA se utiliza para informar de situaciones que pueden causar ***daños personales*** *al propio usuario o a terceras personas. Los detalles de dichas circunstancias se indican en un cuadro como éste.*

PRECAUCIÓN

El término PRECAUCIÓN se utiliza para informar de situaciones que pueden causar ***graves daños al instrumento*** *o a otros aparatos. Los detalles de dichas circunstancias se indican en un cuadro como éste.*

Información de seguridad

Seguridad general

Los instrumentos Lambda Bio/XLS cumplen los requisitos de la Directiva de baja tensión 2006/95/CE, de la Directiva CEM 2004/108/CE y de la Directiva DIV 98/79/CE.

Normas cuyo cumplimiento se declara:

- EN 61010-1 Requisitos de seguridad de equipos eléctricos de medida, control y uso en laboratorio.
- EN 61010-2-101 Requisitos particulares para equipos médicos para diagnóstico in vitro (DIV).
- BS EN 591 Instrucciones de uso de instrumentos de diagnóstico in vitro para uso profesional.
- BS EN 13612 Evaluación de prestaciones de equipos médicos para diagnóstico in vitro.
- EN 61326-2.3 Compatibilidad electromagnética: norma de emisiones genéricas. Equipos eléctricos de medida, control y uso en laboratorio.
- EN 61326 Compatibilidad electromagnética: norma de emisiones genéricas. Equipos eléctricos de medida, control y uso en laboratorio. Clasificados como Clase B para emisiones conducidas e irradiadas.

Este aparato lleva las marcas correspondientes a la Directiva europea 2002/96/CE sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos (RAEE). Más información en el *Manual de seguridad de Lambda Bio/XLS* (L6050014).

El instrumento lleva varias etiquetas y símbolos de advertencia, cuya finalidad es informar al usuario de los riesgos que pueden existir o de las precauciones especiales que son necesarias. Antes de comenzar la instalación, es importante conocer estos símbolos y lo que significan.

El instrumento está sujeto a los siguientes riesgos:

La fuente de ultravioleta que contiene la unidad genera un haz luminoso que atraviesa la cámara de muestras durante las mediciones. En condiciones de uso normal, este haz queda encerrado en la unidad y el sistema no emite radiación UV. Sin embargo, es preciso tener cuidado de no poner elementos reflectantes en el camino del haz durante los muestreos, que podrían reflejar el haz fuera del sistema. La exposición prolongada a este haz puede causar daños oculares permanentes. Si se extrae el portamuestras de la unidad para limpiarlo, serán de aplicación idénticas limitaciones. Esto sólo debe hacerse con la alimentación eléctrica del instrumento desconectada.

- En el interior de la unidad se generan altas tensiones. Las tareas de reparación y mantenimiento sólo deberán encargarse a personas que hayan recibido formación específica para manipular esta clase de instrumentos.

La unidad no contiene materiales biopeligrosos; sin embargo, sí podría utilizarse con muestras biopeligrosas. Dada la naturaleza genérica de estos instrumentos y la gran variedad de usos que pueden tener, no es posible definir procedimientos precisos de descontaminación para tantos tipos de muestras como se pueden probar. Estos deberán ser establecidos por el usuario o por su representante de Seguridad e Higiene antes de que se utilice el instrumento. Más información en el documento M29-A3 Protección de trabajadores de laboratorio frente a infecciones ocupacionales: directrices aprobadas, publicado por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio de Estados Unidos. En caso de peligro biológico, se puede extraer y limpiar el compartimiento de muestras poniéndolo en remojo en un desinfectante apropiado durante al menos 30 minutos. A continuación se lavará el compartimiento con agua destilada y se dejará secar. Igualmente, se puede limpiar el exterior de la unidad con un desinfectante adecuado, utilizando un paño suave o toallita. En caso de derrames internos, se limpiarán introduciendo material absorbente a través de la abertura del compartimiento de muestras y se descontaminarán con toallitas remojadas en desinfectante.

Certificados de descontaminación

En el caso de que sea necesario devolver el instrumento, será necesario un certificado de descontaminación. Los certificados de descontaminación pueden solicitarse al departamento de Atención al Cliente u obtenerse en la siguiente página web:

http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport

Antes de iniciar los trabajos, el usuario debe velar por la seguridad en el entorno de trabajo de los ingenieros o empleados llevando a cabo las evaluaciones de riesgos que correspondan y, en su caso, procedimientos de descontaminación.

Sustancias químicas

El uso, almacenamiento y eliminación de las sustancias químicas necesarias para realizar análisis debe ajustarse a las recomendaciones del fabricante y a la normativa de seguridad local.

Vapores tóxicos

Si se utilizan disolventes volátiles o sustancias tóxicas, se deberá disponer de un sistema eficiente de ventilación del laboratorio para extraer los vapores que puedan generarse durante los análisis.

Eliminación de residuos

Los contenedores de residuos pueden contener soluciones corrosivas u orgánicas y pequeñas cantidades de las sustancias analizadas. Si estos materiales son tóxicos, puede que sea necesario tratar los residuos recogidos como peligrosos. Deberán utilizarse los procedimientos de eliminación dispuestos en la normativa de seguridad local.

Equipos de protección personal

No es necesario utilizar equipos de protección personal (EPP) para manejar este aparato, aunque las muestras analizadas sí pueden obligar a utilizar dichos equipos y deberán ser objeto de una evaluación de riesgos por parte del usuario o representante de Seguridad e Higiene.

Usuarios previstos

Este instrumento está destinado a personas que hayan recibido formación en el uso de espectrofotómetros y conozcan los riesgos que entrañan y que se han detallado anteriormente. En caso de avería o situación de riesgo, el usuario responsable desconectará la alimentación eléctrica de la unidad y aislará el instrumento para descontaminarlo por medios adecuados si se ha derramado material biopeligroso en el interior, exterior o alrededores del instrumento.

Desembalaje e instalación

- Este equipo está diseñado para una instalación conforme al Código Eléctrico Canadiense (CEC) Parte 1, CSA C22.1 y CSA C22.2 N.º 0.

- Inspeccione el instrumento para comprobar si ha sufrido daños durante el transporte. Si observa algún daño, consulte la guía de localización de averías en la página web http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport y siga el proceso indicado. Si no tiene acceso a la web, póngase en contacto con Atención al Cliente (ver *Apéndice 2: Contacto con Atención* al Cliente en página 123).

- Compruebe que la instalación propuesta se ajusta a las condiciones de un entorno de funcionamiento seguro:

  Uso exclusivamente en interiores.

  Rango de temperaturas de 5 °C a 35 °C

  Humedad relativa máxima del 80% hasta 31 °C, en descenso lineal hasta el 50% a 40 °C.

NOTA: Si se utiliza el instrumento en un recinto sometido a variaciones extremas de temperatura durante el día, puede que sea necesario recalibrarlo (apagándolo y encendiéndolo) una vez establecido el equilibrio térmico (de 2 a 3 horas).

- Si se acaba de desembalar el instrumento o se ha guardado en un ambiente frío, debe dejarse que alcance un equilibrio térmico durante 2 o 3 horas en el laboratorio antes de encender el instrumento. De este modo se evitarán fallos de calibrado por condensación interna.

- El instrumento debe colocarse sobre un banco o mesa nivelado y estable, que pueda soportar su peso (aproximadamente 4,5 kg) con espacio suficiente alrededor del instrumento para que el aire circule libremente.

- Este equipo debe enchufarse a la red con el cable y la fuente de alimentación suministrados. Puede utilizarse con redes de 100-240 V y 50-60 Hz.

- El instrumento debe colocarse de manera que el cable de alimentación se pueda desconectar fácilmente de la unidad en caso de avería o situación de riesgo.

- Sitúe el instrumento en un ambiente libre de polvo y vapores corrosivos.

- Antes de utilizar el instrumento, consulte la Guía de usuario.

- Una vez enchufado el instrumento, conéctelo pulsando el botón de encendido del teclado. El instrumento realizará una serie de verificaciones de autodiagnóstico.

ADVERTENCIA

Si el aparato se utiliza de manera distinta a como se especifica en el presente documento, puede que deteriore la protección que lleva y se anule la garantía del instrumento.

Instalación del instrumento

Desembalaje

PRECAUCIÓN	*Sea muy cuidadoso durante la instalación del instrumento y siga los procedimientos descritos en el presente manual.*

1. Compruebe que dispone de los elementos que se indican en la tabla siguiente.

Número de pieza	**Descripción**
L7110184/L7110186	Lambda Bio/Bio+ XLS/XLS+(si procede)
L7110185/L7110187	Lambda Bio/Bio+ XLS/XLS+ con impresora (si procede)
L7110188	Lambda Bio+ con SD (si procede)
L6050014	Manual de seguridad Lambda Bio/XLS
L6050018	CD de documentación Lambda Bio/XLS
L7111023	Guardapolvo de cubeta
L7110231	Utilidad y cable de impresión Lambda Bio/XLS (si procede)
L7110263	Micro cubetas UV (paquete de 8)
	Cable de alimentación

2. Compruebe que los componentes no presentan daños causados durante el transporte:

   - Inspeccione la carcasa del instrumento y asegúrese de que los terminales no están dañados.
   - Compruebe que el compartimiento está limpio de polvo o de otras materias extrañas.

NOTA: Si observa algún daño o faltan piezas, consulte la guía de localización de averías en la página web http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport y siga el proceso indicado. Si no tiene acceso a la web, póngase en contacto con Atención al Cliente (ver *Apéndice 2: Contacto con Atención* al Cliente en la página 123).

Conexión a la fuente de alimentación

ADVERTENCIA

Riesgo eléctrico

Para evitar lesiones al usuario y daños al instrumento realice las conexiones eléctricas del sistema antes de conectarlo a la fuente de alimentación.

El instrumento se ajusta automáticamente a la tensión de funcionamiento correcta.

- Conecte el aparato al enchufe de red con la fuente de alimentación incluida y con el cable de red apropiado para su zona.

  Deberá utilizar el cable de red y la fuente de alimentación que se suministran con el instrumento.

NOTA: Después de desembalar el instrumento o cuando este ha estado almacenado en un ambiente frío, deberá mantenerse durante 2 ó 3 horas en el laboratorio hasta que alcance la temperatura ambiente antes de proceder a su encendido. De este modo se evitarán fallos de calibrado por condensación interna.

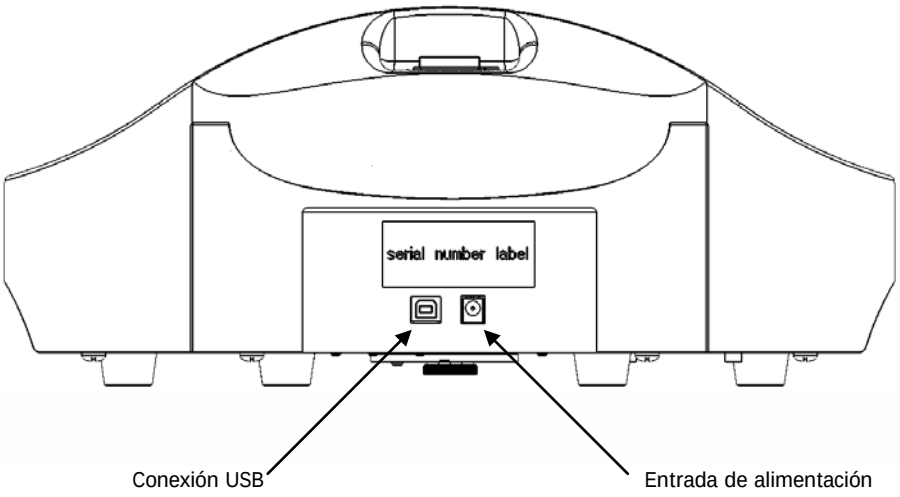


Figura 1 Conexiones de la parte trasera del instrumento Lambda Bio/XLS

El interruptor de encendido está situado en la parte superior izquierda del teclado.

Uso del instrumento

Descripción general del instrumento

El instrumento Lambda Bio/Bio+ es un espectrómetro UV/Visible de fácil manejo provisto de un detector CCD (1024 pixels).

Para acceder a las carpetas y funciones del instrumento Lambda Bio/Bio+ se navega por la pantalla utilizando las teclas alfanuméricas y las flechas de navegación del teclado.

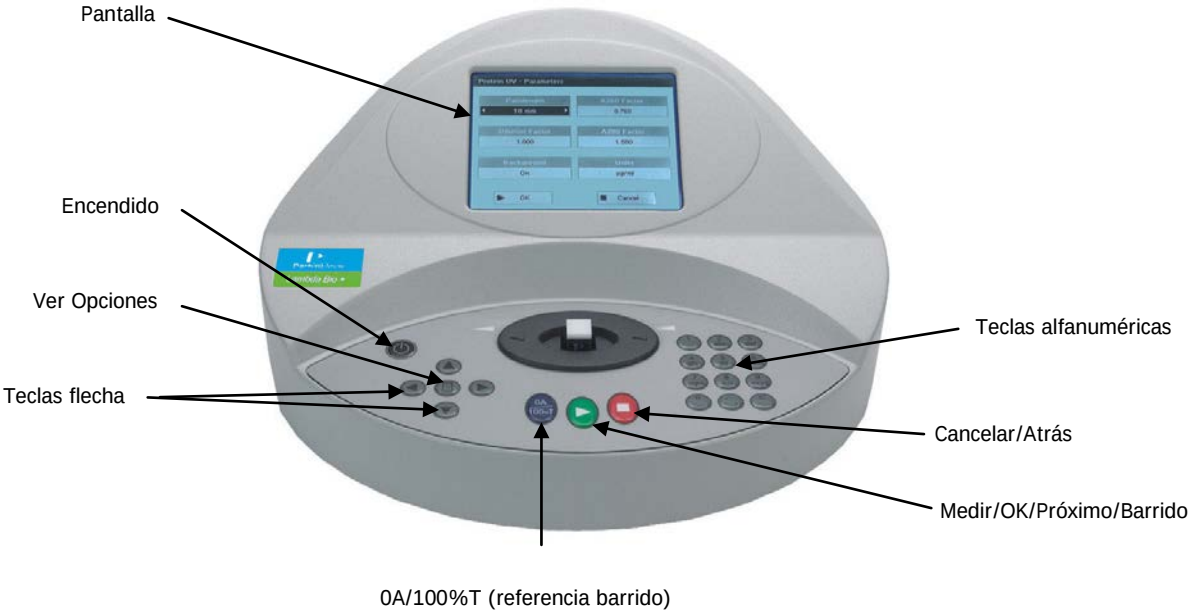


Figura 2 Teclado y pantalla

Elemento	**Función**
Pantalla	La pantalla muestra carpetas y opciones de menú que guían al usuario durante las mediciones y la visualización de resultados.
	Se utiliza para encender y apagar el instrumento.
	Las cuatro flechas se utilizan para navegar por la pantalla y seleccionar el valor necesario de la opción activa (resaltada).
	La tecla de Opciones muestra las opciones disponibles de un método. Para más información, ver *Opciones* en la página 25. Las opciones exclusivas de un determinado método se describen en la sección correspondiente.
	La tecla 0A/100%T establece una medición de solución de referencia en 0,000 A o en 100%T a la longitud de onda actual. En el modo de barrido, realiza un barrido de referencia.

	La tecla **Cancelar/Atrás** se utiliza para cancelar una selección y volver a la carpeta anterior, para volver a la pantalla anterior de un método o para detener una medición.
	La tecla **OK**/**Próximo/Medir/Barrido** se utiliza para introducir o confirmar una selección, para pasar a la pantalla siguiente o para realizar una medición.
Teclas alfanuméricas	Estas teclas se utilizan para introducir parámetros, para realizar selecciones en el menú Opciones o para escribir descripciones textuales, según corresponda. La primera pulsación de una tecla es para introducir una letra minúscula, la segunda para un valor numérico y la tercera para una letra mayúscula. La siguiente pulsación vuelve a iniciar el ciclo. Antes de introducir el siguiente carácter hay que dejar pasar 1 segundo. Utilice la tecla para borrar un carácter. Pulse 1 para introducir un espacio.

Encendido del instrumento

NOTA: Después de desembalar el instrumento o cuando este ha estado almacenado en un ambiente frío, deberá mantenerse durante 2 ó 3 horas en el laboratorio hasta que alcance la temperatura ambiente antes de proceder a su encendido. De este modo se evitarán fallos de calibrado por condensación interna.

PRECAUCIÓN

No encienda y apague el instrumento rápidamente, ya que podría dañar la fuente de alimentación.

Espere al menos 30 segundos antes de reiniciar el instrumento.

- Conecte el instrumento con el interruptor de encendido del teclado, como se indica en Figura 3.

  El instrumento realizará una serie de verificaciones de diagnóstico.

NOTA: Si durante la calibrcaión el instrumento le muestra algún mensaje de error le aparecerá para pulsar OK y reiniciar el procedimiento de calibración. Si tras tres intentos persiste el error, tome nota del mismo y acuda a la Guia de Solucionar Problemas en la página we de perkinelmer para solucionar el problema. NO debe usar el instrumento en estas circustancias.

Tras el encendido y la calibración, se visualiza la página de inicio predeterminada.

Para abrir un método o carpeta, pulse el número adecuado en el teclado.

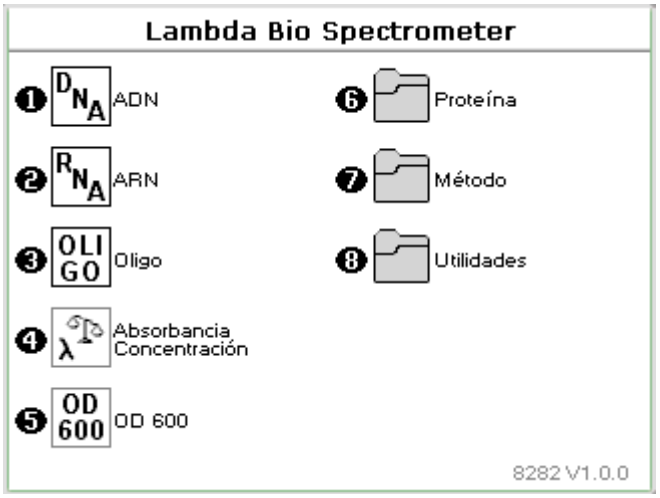


Figura 3 Página de inicio de Lambda Bio

Uso del software

La página de inicio contiene una lista de carpetas y funciones o métodos. Los elementos de la lista van numerados y se abren marcando el número correspondiente en el teclado. Al abrir una carpeta se pasa a otra pantalla de opciones adicionales. Al abrir un método se pasa a una pantalla donde se pueden configurar los parámetros necesarios antes de utilizar el método para realizar mediciones.

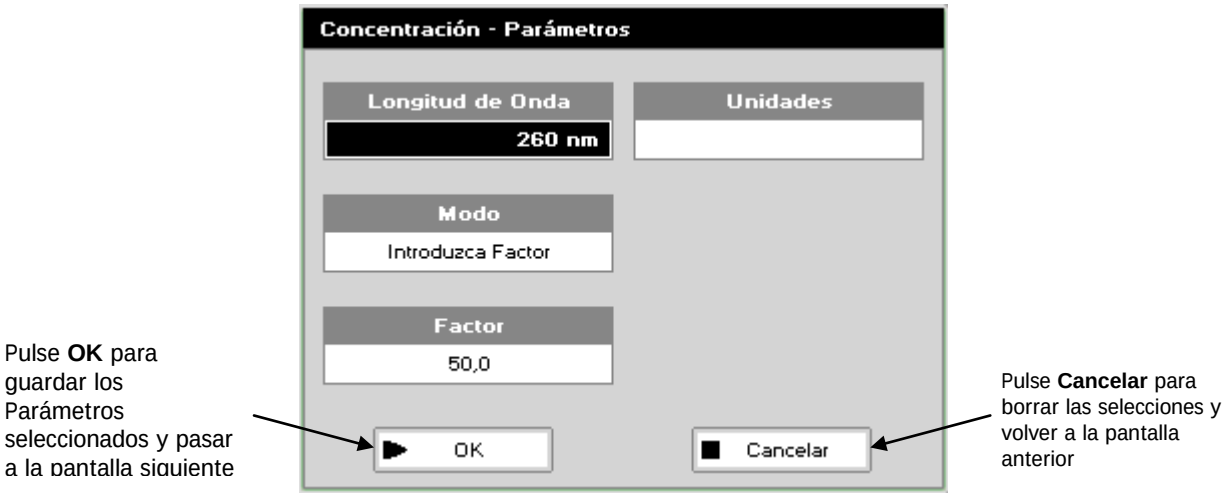


Figura 4 Pantalla típica de parámetros

Navegación

- Las teclas de flecha arriba y flecha abajo permiten pasar de un parámetro a otro.

Introducción de parámetros

- Para introducir parámetros, utilice las teclas numéricas.

  O BIEN

  Si el cuadro contiene el símbolo ⊠, escriba un valor o pulse la tecla de opciones y elija una opción en la pantalla siguiente.

  O BIEN

  Si el cuadro contiene símbolos de flecha, utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar el parámetro necesario.

Realizar mediciones

Una vez introducidos los parámetros, pulse **OK** para iniciar las mediciones. Aparecerá la pantalla de resultados del método.

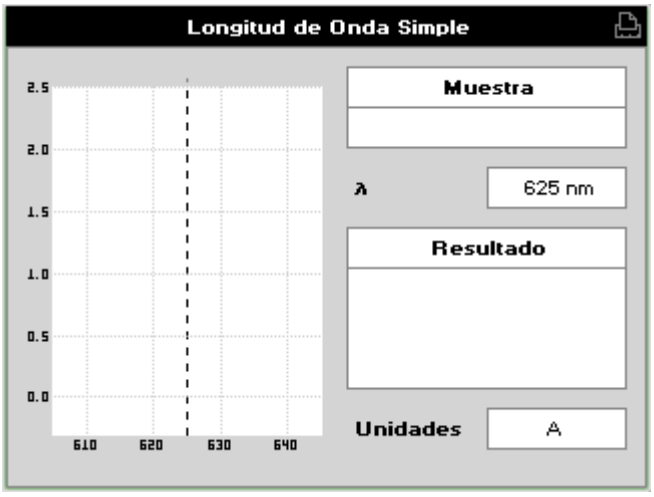


Figura 5 Pantalla típica de resultados

1. Introduzca la muestra de referencia en el portamuestras y pulse la tecla OA/100%T para realizar la medición de referencia.
2. Introduzca la primera muestra y pulse .
3. Repita el paso 2 para cada muestra.

Resultados

Los resultados se visualizan en pantalla.

NOTA: Los resultados mostrados con línea discontinua (----) indican que la concentración está fuera de rango como, por ejemplo, cuando se obtiene un valor de absorbancia negativo.

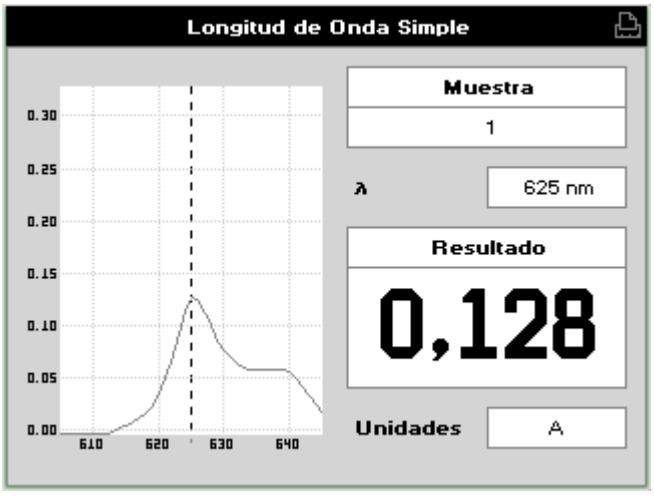


Figura 6 Pantalla de resultados del método Longitud de Onda Simple

Opciones

En cada método se pueden seleccionar varias opciones que definen la manera en que se tratan los resultados. Estas opciones pueden ser específicas del método o permitir la impresión de resultados o la visualización de parámetros.

- Pulse la tecla para ver el menú Opciones.

Las opciones disponibles son:

Opción	Texto	Función
1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime los resultados.
3–6	N/A	Opciones específicas del método.
7	Número de Muestra	Define el número de la muestra con la que desea comenzar a realizar mediciones.
8	Salvar el Método	Le permitirá guardar los Ajustes del método como un nuevo método en las carpetas Methods (métodos) o Favorites (favoritos) o, si se instala, en una Tarjeta de memoria SD. Puede guardar hasta 9 métodos en la carpeta.
		NOTA: No hay carpeta de favoritos en el Lambda Bio.
		NOTA: Los métodos de más de un tipo de instrumento se pueden guardar en la misma Tarjeta de memoria SD. Los métodos se guardan en la tarjeta en un directorio predeterminado que depende del tipo de instrumento: \<Tipo de instrumento>\Métodos. Por ejemplo, \Lambda XLS\Métodos
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática. Esta opción está desactivada de forma predeterminada.

- Pulse la tecla o o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

  Se pueden utilizar las teclas numéricas como forma de acceso abreviado a la opción requerida, sin necesidad de entrar en el menú Opciones.

Si no se está utilizando un método previamente guardado, es aconsejable comprobar que estas opciones se han configurado correctamente para el experimento antes de medir las muestras.

NOTA: Si el parámetro de **Historia** está en **On** (ver *Preferencias* en la página 37), el instrumento guardará sus últimos parámetros. Si el parámetro de **Historia** está en **Off**, cuando salga de un método todos sus parámetros y opciones volverán a sus valores predeterminados a menos que se guarden como parte de un nuevo método.

Método y Favoritos

La carpeta Método permite guardar métodos modificados por el usuario, basados en los métodos predeterminados del instrumento, que se pueden salvar desde el menú Opciones. Puede guardar hasta 9 métodos en la carpeta. Para recuperar métodos ya guardados, pulse en el teclado el número correspondiente para entrar en la carpeta de Métodos. También puede exportar métodos (backup) en una tarjeta SD o importarlos (restaurar) desde una Tarjeta de memoria SD.

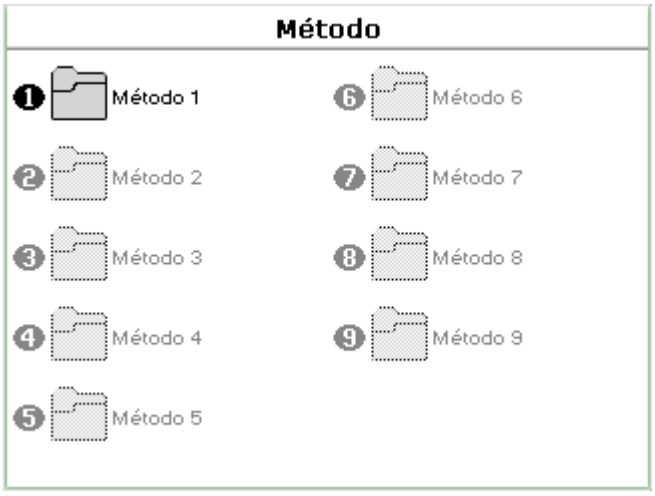


Figura 7 Carpeta Método

Opciones de carpetas

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles en la carpeta Método, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

Opción	Texto	Función
1	Nombres de las carpetas	Permite dar un nuevo nombre a la carpeta Método.
2	Bloquear Carpeta	Permite al usuario bloquear la carpeta.
3	Desbloquear Carpeta	Permite al usuario desbloquear la carpeta.
4	Tarjeta de memoria SD	Permite al usuario abrir la tarjeta SD (esta opción sólo es aplicable si se tiene una tarjeta SD instalada en el instrumento.)

Nombres de las carpetas

1. Abra la carpeta Método.
2. Pulse para ver las Opciones disponibles.
3. Pulse 1 para seleccionar **Nombres de las carpetas**.

4. Seleccione la **Carpeta** que desee renombrar utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
5. Escriba un **Nuevo Nombre** para la carpeta utilizando el teclado alfanumérico.
6. Pulse **OK** para renombrar la carpeta.

Bloquear Carpeta

1. Abra la carpeta Método.
2. Pulse para ver las opciones disponibles.
3. Pulse 2 para seleccionar **Bloquear carpeta**.

4. Seleccione la **Carpeta** que desee bloquear utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

5. Introduzca un **Código de entrada** para la carpeta con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha.

6. Pulse **Bloquear** para bloquear la carpeta.

Desbloquear Carpeta

1. Abra la carpeta Método.

2. Pulse para ver las opciones disponibles.

3. Pulse 3 para seleccionar **Desbloquear carpeta**.

4. Seleccione la **Carpeta** que desee desbloquear utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

5. Introduzca el **Código de entrada** para la carpeta con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha.

6. Pulse **Desbloquear** para desbloquear la carpeta.

Tarjeta de memoria SD

Si se instalara una Tarjeta de memoria SD en su instrumento, podrá acceder a la opción de carpeta de Tarjeta de memoria SD. Las opciones **Copiar Carpeta** o **Copiar todas las Carpetas** le permitirán copiar una carpeta de métodos o todas las carpetas de métodos en su instrumento, respectivamente, a la Tarjeta de memoria SD. Los métodos de más de un instrumento se pueden guardar en la misma tarjeta. Los métodos se guardan en un directorio predeterminado \<Número de serie>\BACKUP

Por ejemplo, \1000\BACKUP\METHODS\Métodos 1

La Tarjeta de memoria SD se puede conectar a un lector de tarjetas acoplado a su PC. Los métodos se pueden renombrar (hasta un máximo de 24 caracteres) y pasar entre carpetas.

Las opciones **Restaurar Carpeta** o **Restaurar todas las Carpetas** (restaurar todas las carpetas) restauran el contenido de la carpeta del directorio BACKUP de la Tarjeta de memoria SD. Todos los métodos en las carpetas se sobrescriben si selecciona **Restaurar Carpeta** o **Restaurar todas las Carpetas**. Si hubiera renombrado una carpeta del instrumento, el nombre de carpeta se sobrescribirá por aquellos del directorio BACKUP de la Tarjeta de memoria SD.

NOTA: Si renombra una carpeta en la Tarjeta de memoria SD y a continuación intenta restaurar el contenido, su instrumento no reconocerá la carpeta y no se restaurará.

La función **Restaurar todas las Carpetas** también puede utilizarse si deseara ajustar múltiples instrumentos del mismo tipo para que tengan los mismos métodos y estructura de carpetas. Navegue con Windows Explorer hasta la carpeta \<número de serie>\BACKUP que contiene los métodos que le gustaría utilizar, y a continuación renombre la carpeta \<tipo de instrumento>\BACKUP. A continuación puede restaurar cada instrumento de forma habitual.

Para realizar el backup o restaurar sus carpetas:

1. Abra la carpeta Método.
2. Pulse para ver las opciones disponibles.
3. Pulse 4 para seleccionar **Tarjeta de memoria SD**.
   Aparecerá la pantalla Tarjeta de memoria SD.

4. Seleccione el modo de **Operación** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
   Las opciones son **Copiar Carpeta**, **Restaurar Carpeta**, **Copiar todas las Carpetas** **Restaurar todas las Carpetas**.
5. Seleccione la **Carpeta** utilizando las flechas izquierda y derecha.
6. Pulse **OK** .

NOTA: El LED cercano a la tarjeta se encenderá mientras se guardan los métodos en la tarjeta. La tarjeta no deberá retirarse mientras el LED esté encendido ya que podría corromper sus métodos. Para algunos métodos, tiene que salir del método para finalizar la impresión. Vea la *Lambda Bio/XLS Print Utility User's Guide (guía de usuario de la utilidad de impresión XLS/Lambda Bio)* (L6050015) para disponer de más información.

Opciones de métodos

➢ Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles en la carpeta Método, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

Opción	Texto	Función
1	Borrar el Método	Permite al usuario borrar el método.
2	Bloquear Método	Permite al usuario bloquear el método.
3	Desbloquear Método	Permite al usuario desbloquear el método.

Borrar el Método

1. Abra la carpeta del método correspondiente.
2. Pulse para ver las opciones disponibles.
3. Pulse 1 para seleccionar **Borrar el Método**.
4. Seleccione el método que desee borrar utilizando las flechas izquierda y derecha.

5. Pulse **Borrar** para borrar el método.

Bloquear Método

1. Abra la carpeta del método correspondiente.
2. Pulse para ver las opciones disponibles.

3. Pulse 2 para seleccionar **Bloquear Método**.

4. Seleccione el método que desee bloquear utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
5. Seleccione un código de entrada con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha.
6. Pulse **Bloquear** para bloquear el método.

Desbloquear Método

1. Abra la carpeta del método correspondiente.
2. Pulse para ver las opciones disponibles.
3. Pulse 3 para seleccionar **Desbloquear Método**.

4. Seleccione el método que desee desbloquear utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
5. Introduzca un código de entrada con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha.
6. Pulse **Desbloquear** para desbloquear el método.

Métodos del instrumento Lambda Bio/Bio+

Los métodos predefinidos disponibles en el instrumento Lambda Bio/Bio+ son:

Métodos Estándar (sólo Lambda Bio+)

- Longitud de Onda Simple
- Longitud de Onda Múltiple
- Barrido de Ondas
- Concentración
- Curva Estándar
- Cinética
- Razón de Absorbancia

Ácidos Nucleicos

- ADN
- ARN
- Oligo

Proteína

- Proteína UV
- BCA
- Bradford
- Lowry
- Biuret

- OD 600
- Absorbancia y concentración (sólo Lambda Bio).

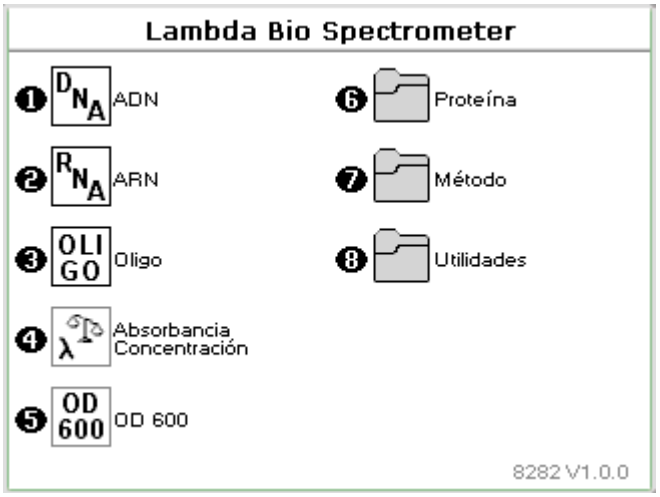


Figura 8 Página de inicio del Lambda Bio

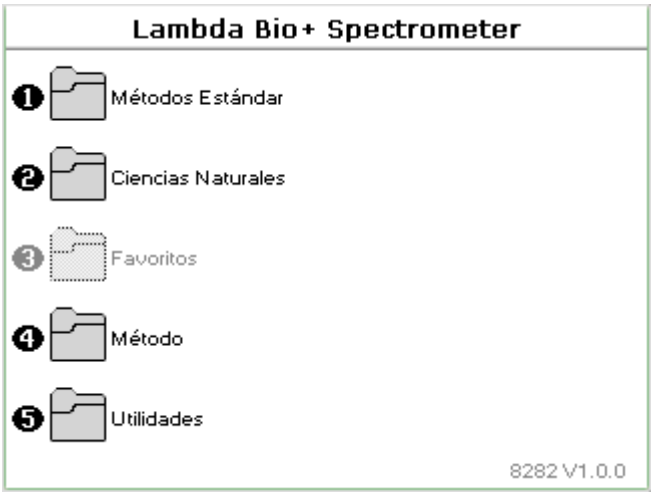


Figura 9 Página de inicio del Lambda Bio+

Utilidades

Se puede utilizar la carpeta Utilidades para modificar la configuración del instrumento.

- Pulse el número correspondiente del teclado para entrar en la carpeta Utilidades. Aparecerá la pantalla Utilidades.

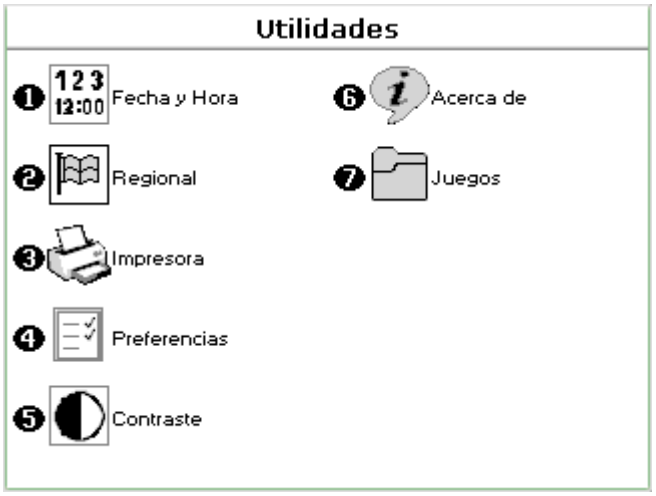


Figura 10 Pantalla Utilidades

Las utilidades son:

1	Fecha y Hora	Para establecer la fecha y hora correctas.
2	Regional	Para seleccionar el idioma y el Formato del Número de preferencia.
3	Impresora	Opciones de impresión.
4	Preferencias	Selección de la presentación en pantalla (temas) y opción de historia.
5	Contraste	Ajuste del contraste y brillo de la pantalla.
6	Acerca de	Número de serie y versión de software.
7	Juegos	Bloques/Sudoku.

Fecha y Hora

1. Pulse 1 para seleccionar **Fecha y Hora**.
   Aparecerá la pantalla Fecha y Hora.

2. Utilice las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha para introducir los datos de **Día**, **Mes**, **Año**, **Hora** y **Minuto**.

3. Pulse **OK** para guardar los valores y volver a la carpeta Utilidades.
   Al pulsar **OK** los segundos se ponen a cero.

Regional

1. Pulse 2 para seleccionar **Regional**.
   Aparecerá la pantalla Regional.

2. Utilizando las flechas izquierda y derecha, seleccione **Idioma** y pulse la flecha abajo.
   Las opciones son Chino, Francés, Inglés, Alemán, Italiano, Japonés o Español.

3. Seleccione el **Formato del Número** (el tipo de separador decimal) utilizando las flechas izquierda y derecha.

   Las opciones disponibles son «,» o «.».

4. Pulse **OK** para guardar los valores y volver a la carpeta Utilidades.

Impresora

1. Pulse 3 para seleccionar **Impresora**.

   Aparecerá la pantalla Impresora.

2. Seleccione si la impresión automática debe estar **On** u **Off** utilizando las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

   Si la **Impresión automática** está **On**, los resultados se imprimirán automáticamente después de realizar una medición o al salir de la aplicación, según el método. Se visualizará el icono apropiado para su opción de Impresora en la esquina superior derecha de la pantalla de resultados del método.

   Si la **Impresión automática** está **Off**, la impresión deberá iniciarse manualmente.

3. Seleccione la forma de envío de los datos.

   Las opciones son **Interno** (impresora interna), **Ordenador (USB)** (a un ordenador a través del puerto USB), **SD Tarjeta de Memoria** u **Ordenador (Bluetooth)** (a un ordenador a través de Bluetooth).

   Las opciones disponibles dependerán de lo que se encuentre instalado en su instrumento.

NOTA: Si se selecciona la Tarjeta de memoria SD, los datos se guardarán como archivos .pvc en una carpeta que depende del número de serie del instrumento: \<Número de serie>\PVC. El tipo de método se guarda en el nombre de archivo. Para disponer de información sobre cómo ver sus resultados y guardar sus datos en otros formatos, vea “Lambda Bio XLS Report Utility Viewer” (visor de utilidad de informes Lambda Bio XLS) en la *Lambda Bio/XLS Print Utility User’s Guide* (guía de usuario de la utilidad de impresión XLS/Lambda Bio) (L6050015).

NOTA: Si se instalara una Tarjeta de memoria SD en su instrumento, el LED cercano a la tarjeta se encenderá mientras se están imprimiendo los datos en la tarjeta. La tarjeta no deberá retirarse del instrumento mientras el LED esté encendido ya que podría corromper sus datos. Para algunos métodos, tiene que salir del método para finalizar la impresión. Vea "Receiving Print Data" (Recepción de datos de impresión) en la *Lambda Bio/XLS Print Utility User's Guide (guía de usuario de la utilidad de impresión XLS/Lambda Bio)* (L6050015) para disponer de más información.

4. Pulse **OK** para guardar los valores y volver a la carpeta Utilidades.

Preferencias

1. Pulse 4 para seleccionar **Preferencias**.
   Aparecerá la pantalla Preferencias.

2. Seleccione si los **Juegos** estarán disponibles o no mediante las flechas izquierda y derecha.
   Las opciones disponibles son **Sí** o **No**.

3. Defina el **Tema** (la presentación de las carpetas en pantalla).
   Las opciones son formato **Rejilla** o **Lista**.

4. Seleccione el modo **Historia** utilizando las flechas izquierda y derecha.
   Si el valor seleccionado es **Off**, el instrumento no recordará los parámetros del método a menos que se restauren como un nuevo método. El valor predeterminado es **Off**.

5. Seleccione si se utilizará el modo de **Auto Espera** después de un período predeterminado.
   Las opciones son **1 hora**, **2 horas**, **De Noche** o bien **Desconectar**.

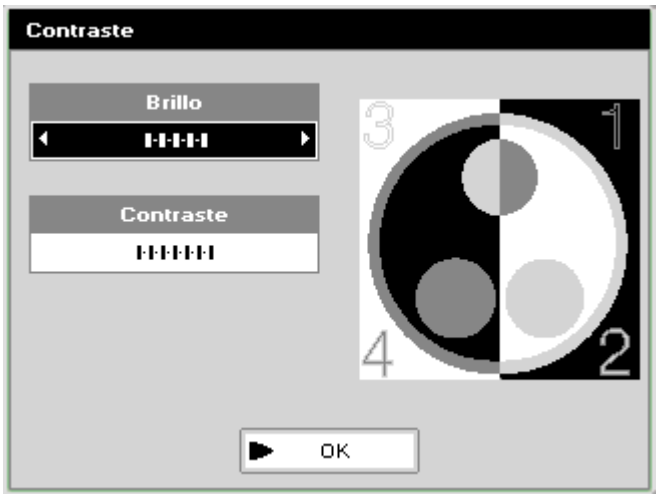
6. Pulse **OK** para guardar los valores y volver a la carpeta Utilidades.

Contraste

La temperatura ambiente puede afectar a la pantalla. La función de contraste puede optimizar la visualización en pantalla de acuerdo con las condiciones locales.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 5 para seleccionar **Contraste**.
   Aparecerá la pantalla Contraste.



2. Ajuste el **Brillo** utilizando las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

3. Ajuste el **Contraste** utilizando las flechas izquierda y derecha.

4. Pulse **OK** para guardar los valores y volver a la carpeta Utilidades.

Acerca de

La pantalla Acerca de muestra el número de serie del instrumento y la versión de software.

1. Pulse 6 para seleccionar **Acerca de**.
   Aparecerá la pantalla Acerca de.

2. Pulse **OK** para cerrar la ventana y volver a la carpeta Utilidades.

Manipulación de las muestras

- El haz de luz se dirige de DERECHA a IZQUIERDA a través del compartimiento de la célula, como indican las flechas blancas en la carcasa del instrumento. Compruebe que la célula presenta la alineación correcta.

- El portacélulas suministrado con el instrumento acepta células estándar de cuarzo, vidrio o plástico con un camino óptico de 10 mm.

- La altura óptica es de 15 mm y el volumen mínimo que puede utilizarse es de aproximadamente 10 µl en una ultramicrocélula.

NOTA: Si se utilizan filtros de calibración estándar, deberán insertarse de manera que la superficie plana quede de espaldas al extremo del muelle del portacélulas.

NOTA: Se incluye una cubierta para evitar que penetre polvo o materias extrañas en el compartimiento de muestras. Mientras se utiliza el instrumento, la cubierta de protección contra el polvo deberá guardarse en un lugar seguro próximo.

Métodos del instrumento

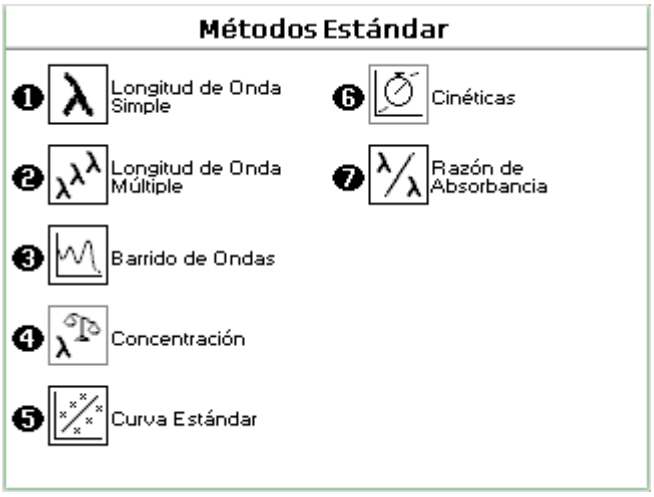
Longitud de Onda Simple

NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

El método Longitud de Onda Simple mide la absorbancia (A) y el porcentaje de transmisión (%T) en las muestras a través de la cantidad de luz que pasa por la muestra en relación con una referencia (que puede ser el aire).

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



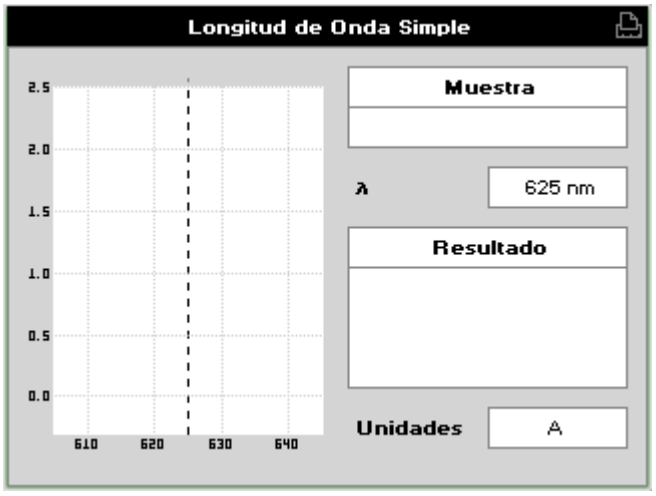
2. Pulse 1 para abrir el método Longitud de Onda Simple.
   Aparecerá la pantalla Longitud de Onda Simple - Parámetros.

3. Establezca la **Longitud de Onda** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

4. Seleccione el **Modo** utilizando las flechas izquierda y derecha.
   Las opciones disponibles son **Absorbancia** o **%Transmisión**.

5. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.

   Aparecerá la pantalla de resultados de Longitud de Onda Simple.

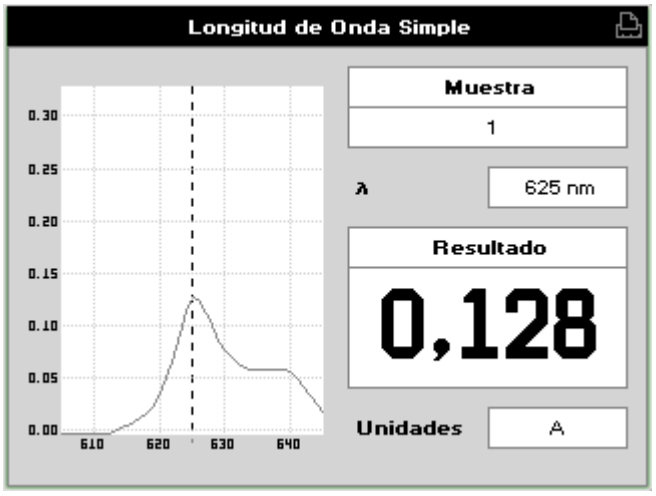


6. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.

   Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

7. Introduzca la primera muestra y pulse .

   Aparecerá en pantalla el resultado a la longitud de onda seleccionada. Utilice las flechas izquierda y derecha para mover el cursor y mostrar el valor en la posición del cursor (±20 nm a partir de la longitud de onda establecida).



8. Repita el paso 7 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que pueden ser seleccionadas con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime el resultado a través del método seleccionado.
3	A/%T	Alterna entre el modo de Absorbancia y %Transmisión.
4	Imprima Gráfico	Imprime un gráfico (esta opción aparece sombreada en gris si no hay datos disponibles).
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

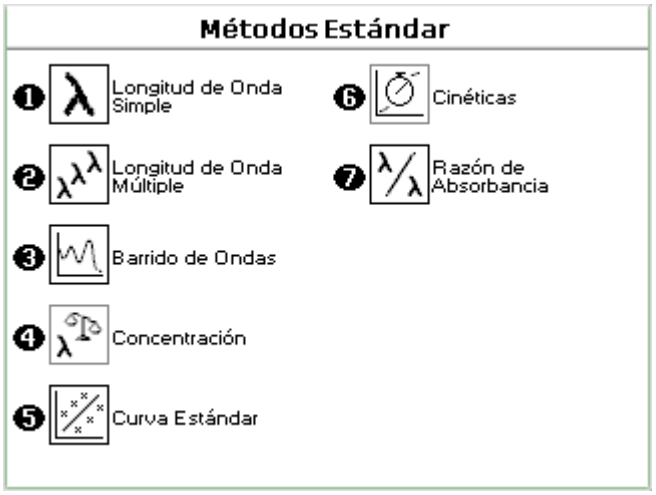
Longitud de Onda Múltiple

NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

El método Longitud de Onda Múltiple permite realizar mediciones de absorbancia a hasta 5 longitudes de onda.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



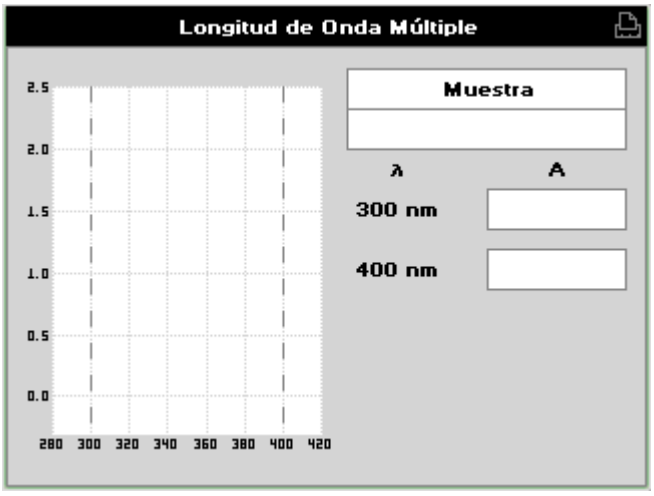
2. Pulse 2 para abrir el método Longitud de Onda Múltiple.
   Aparecerá la pantalla Longitud de Onda Múltiple - Parámetros.

3. Seleccione el número de **Longitudes de Onda** y pulse la flecha abajo.
   Las opciones disponibles son de 2 a 5.

4. Introduzca la primera longitud de onda (**λ1**) con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

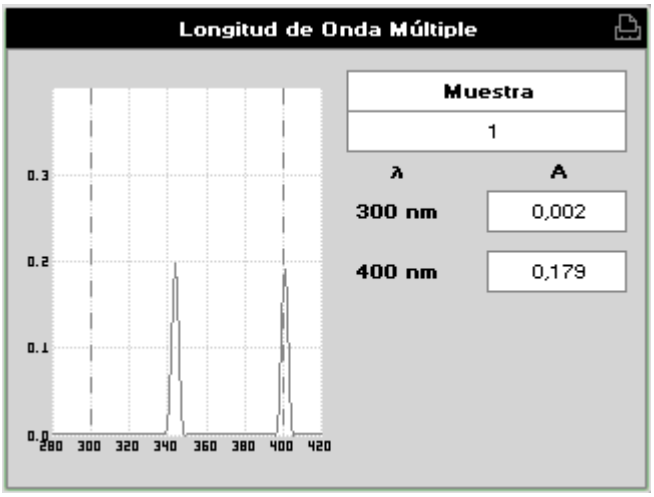
5. Repita el paso 4 para cada una de las longitudes de onda.

6. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
   Aparecerá la pantalla de resultados de Longitud de Onda Múltiple.



7. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
   Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

8. Introduzca la primera muestra y pulse .
   Aparecerá un espectro que abarcará todo el intervalo de longitudes de onda, con cursores marcando las longitudes de onda escogidas. También aparecerá una tabla de valores de absorbancia a esas longitudes de onda.



9. Repita el paso 8 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime los datos en la pantalla de resultados (la tabla de absorbancia) a través del método seleccionado.
4	Imprima Gráfico	Imprime un gráfico (esta opción aparece sombreada en gris si no hay datos disponibles).
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

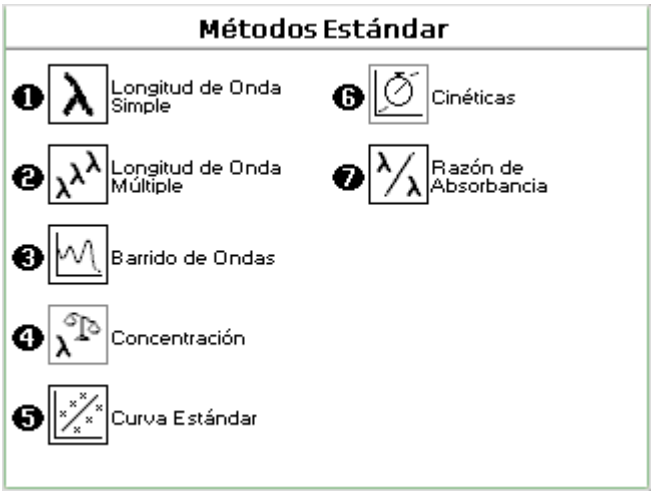
Barrido de Ondas

NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

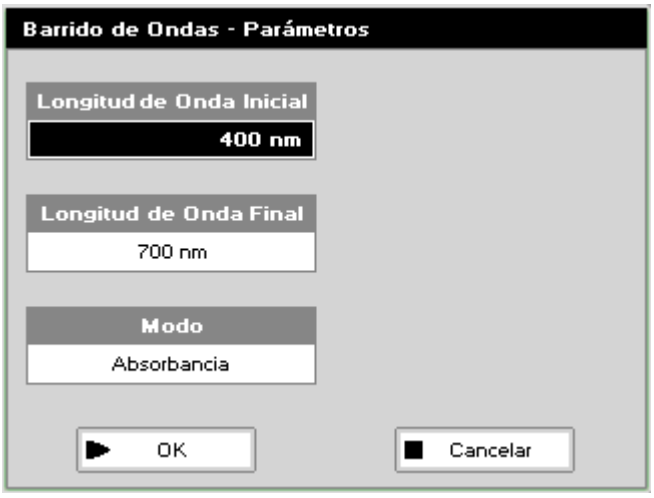
El método Barrido de Ondas permite realizar un barrido de ondas de absorción y determinar alturas y posiciones de picos.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



2. Pulse 3 para abrir el método Barrido de Ondas.
   Aparecerá la pantalla Barrido de Ondas - Parámetros.



3. Establezca la **Longitud de Onda Inicial** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

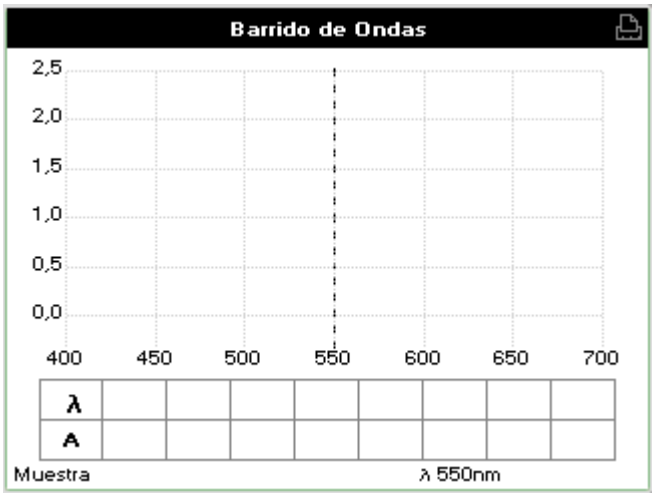
4. Establezca la **Longitud de Onda Final** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

5. Seleccione el **Modo** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

   Las opciones disponibles son **Absorbancia** o **%Transmisión**.

6. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.

   Aparecerá la pantalla de resultados de Barrido de Ondas.



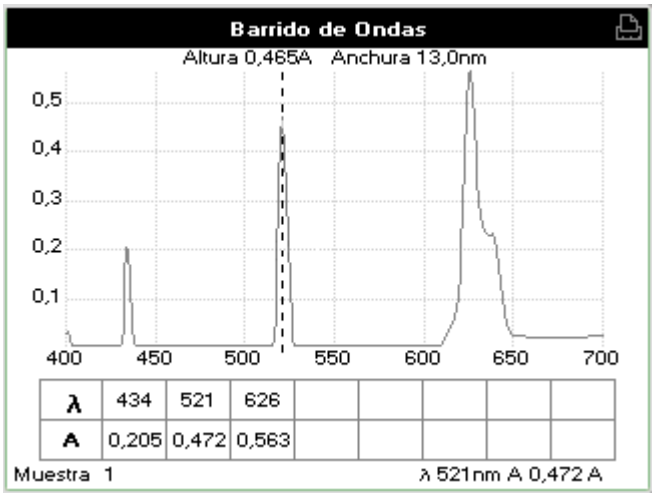
7. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.

   Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

8. Introduzca la primera muestra y pulse .

   Aparecerá un barrido de ondas y una tabla de valores de Absorbancia/%Transmisión.

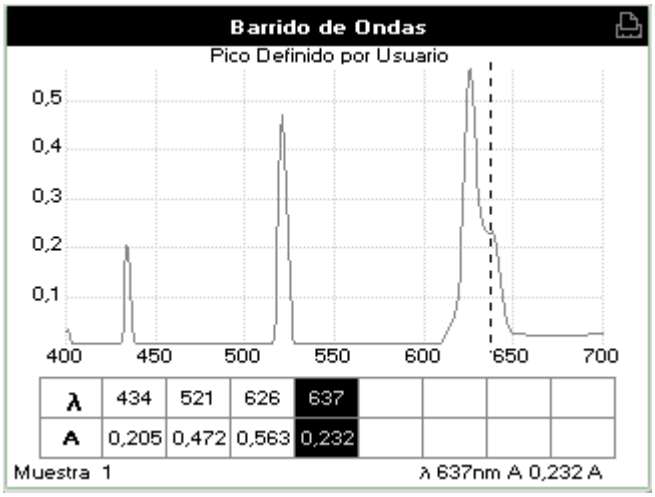
   Utilice las flechas izquierda y derecha para mover el cursor por el gráfico. Al llegar a un pico se mostrarán la altura y la anchura del pico en la parte superior de la pantalla. Para ampliar la escala de longitud de onda utilice la flecha arriba. De este modo se amplía el eje de Absorbancia/%Transmisión a escala (en función de la opción Escala de la Gráfica) y se conserva para posteriores mediciones. Para volver a reducir la escala utilice la flecha abajo.



9. Repita el paso 8 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime el resultado a través del método seleccionado.
3	A/%T	Alterna entre el modo de Absorbancia y el de %Transmisión.
4	Detección de Pico	Muestra la pantalla Parámetros de Detección de Pico. **Detectar Picos Auto**: Activa y desactiva la detección automática de picos. Las opciones siguientes determinan cómo se detectan los picos: • **Altura Mínima de Pico**: Altura mínima que debe alcanzar el pico por encima del más alto de los dos mínimos adyacentes para que pueda ser detectado. • **Anchura Mínima de Pico**: Anchura mínima del pico determinada por la diferencia de longitud de onda entre el más alto de los dos mínimos adyacentes y la intersección opuesta de ese nivel mínimo superior y el perfil del pico. • **Detectar Pico en Amp.**: Determina si los picos son reevaluados y tabulados cuando se amplia una región del barrido de ondas. Si se selecciona la opción **No**, la detección de pico seguirá siendo la determinada antes de la ampliación. • **Ordenar Picos por**: Determina el orden que se sigue para reflejar los picos. Las opciones son **Anchura de Pico**, **Longitud de Onda** y **Altura de Pico**.

		• **Dibuje Picos**: Activa y desactiva la visualización de los cursores de pico. Los cursores de pico muestran líneas discontinuas verticales que indican la altura del pico medido así como líneas discontinuas horizontales que indican la anchura del pico. ➢ Pulse para cancelar las selecciones; pulse para aceptarlas.
5	Agregue Pico/Borre Pico	Agregue Pico permite agregar manualmente una posición de pico a la tabla de picos que aparece en la pantalla de resultados en la posición indicada por el cursor. A continuación se muestra la entrada en la tabla de picos en coloración inversa para distinguir entre los picos definidos por el usuario y los picos de autodetección. Si el cursor está situado sobre un pico definido por el usuario, aparece la leyenda **Pico Definido por Usuario** en la parte superior del barrido. A continuación la opción cambia a **Borre Pico** para que se pueda eliminar el pico.  **NOTA:** Si se salva un método en este momento, se salvarán estas longitudes de onda definidas por el usuario de manera que cada vez que se ejecute el método se reflejarán los valores de absorbancia a estas longitudes de onda.

6	Escala de la Gráfica	Muestra la pantalla Parámetros de Escala de la Gráfica. De este modo es posible configurar una gráfica predeterminada definiendo los límites en el eje *x* o en el eje *y* o en ambos ejes. **Zoom:** Permite configurar el funcionamiento de las teclas de zoom (flechas arriba y abajo). La opción **eje *x*** hace que el zoom actúe en torno al eje ***x*** del punto del cursor, la opción **eje *y*** hace que el zoom actúe en torno al eje ***y*** del punto del cursor, mientras que la opción **ejes *x, y*** expande ambos ejes en torno al punto del cursor. Si se establecen límites para los ejes *x* o *y*, la reducción de zoom sólo será posible entre los límites establecidos. **Límites del eje *x*/Límites del eje *y***: Al seleccionar el valor **On** se activan los puntos de inicio y final de la gráfica deseada para longitudes de onda o valores de absorbancia específicos y definidos por el usuario. ➢ Pulse para cancelar las selecciones; pulse para aceptarlas y mostrar la gráfica requerida.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

➢ Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

➢ Pulse para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

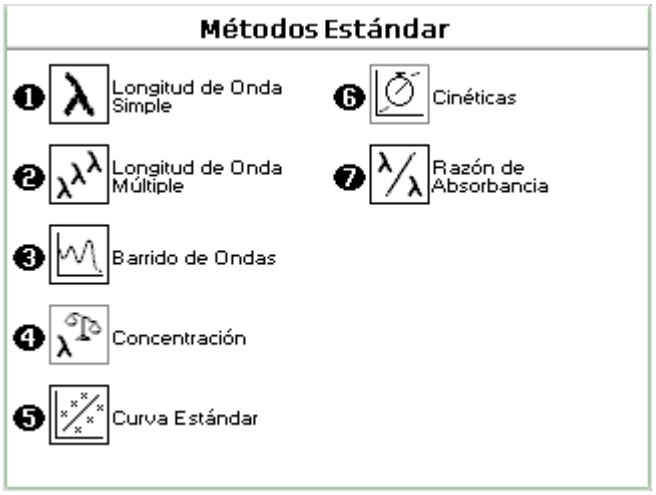
Concentración

NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

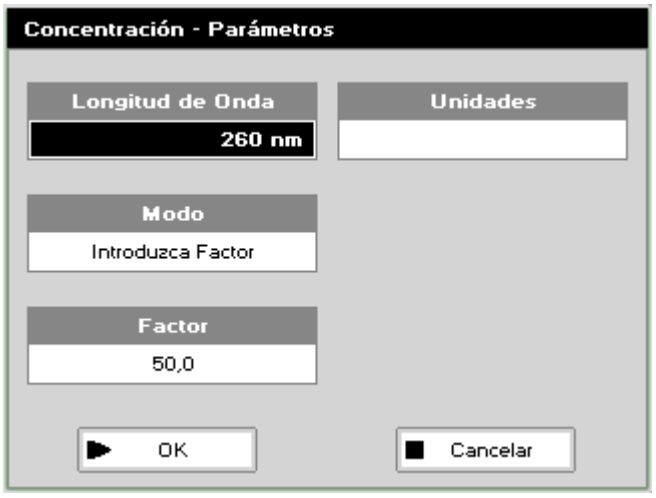
El método Concentración realiza sencillas mediciones de concentración en las muestras midiendo la cantidad de luz que pasa por la muestra en relación con una referencia (que puede ser el aire). La concentración se determina midiendo la absorbancia a una longitud de onda específica y multiplicando después esta por un factor. Si el factor se conoce con antelación, se puede introducir en el método. Si el factor no se conoce, se puede medir un estándar de concentración conocida y el instrumento realiza el cálculo después.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



2. Pulse 4 para abrir el método Concentración.
   Aparecerá la pantalla Concentración - Parámetros.



3. Establezca la **Longitud de Onda** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

4. Seleccione el **Modo** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

   Las opciones son **Introduzca Factor** (se introduce un factor conocido), **Introduzca Estándar** (el factor se calcula a partir de una muestra de calibración), **Introd. Factor Negativo** (se introduce un factor conocido negativo).

5. Si selecciona la opción **Factor** o **Factor Negativo**, introduzca el **Factor** (o **Factor Negativo**) con las teclas numéricas y pulse a continuación la flecha abajo.

   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

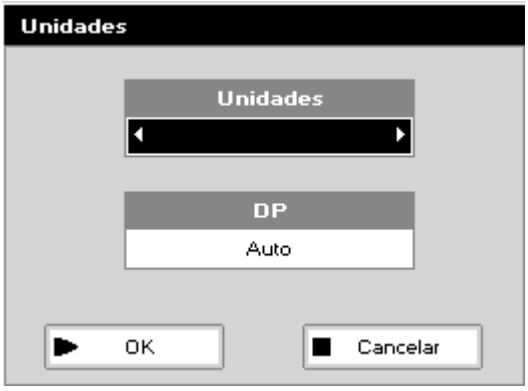
   O BIEN

   Si selecciona la opción **Introduzca Estándar**, introduzca la **Concentración** con las teclas numéricas y pulse a continuación la flecha abajo.

   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

6. Introduzca las **Unidades** y pulse la flecha abajo.

   Puede introducir hasta 8 caracteres de texto a través del teclado o pulsar la tecla de opciones para ver la pantalla Unidades y acceder a una lista de unidades predefinidas.



   En la pantalla Unidades, utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una de las opciones disponibles. Las opciones son **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o ninguna.

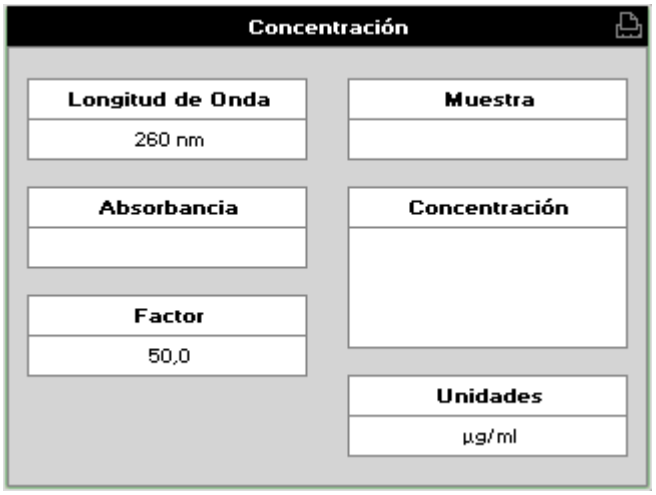
   La pantalla Unidades también permite seleccionar el número de cifras decimales a mostrar (**DP**). Las opciones disponibles son **Auto**, **0**, **1** y **2**.

NOTA: El resultado siempre se fijará en 5 cifras significativas, independientemente del número de cifras decimales seleccionado (de modo que 98768,2 se verá siempre como 98768 aunque se seleccione 1 cifra decimal).

   Pulse **OK** para guardar sus opciones y volver a la pantalla Parámetros.

   Aún puede editar las unidades si lo considera necesario.

7. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
   Aparecerá la pantalla de resultados de Concentración.



8. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
   Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

9. Si ha seleccionado medir un estándar, introduzca el estándar deseado y pulse **OK**.
   Aparecerá la pantalla Medir estándar.

   O BIEN

   Si ha seleccionado Factor, vaya al paso 11.

10. Pulse **Medir** para medir el estándar.
    Aparecerá el factor calculado.

11. Introduzca la primera muestra y pulse .
    Aparecerá la concentración de la muestra.

12. Repita el paso 11 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime el resultado a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico. El intervalo de longitudes de onda del gráfico visualizado es de ±20 nm a partir de la longitud de onda seleccionada, indicada por el cursor.
4	Medir estándar	Vuelve a la pantalla Medir estándar.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

Curva Estándar

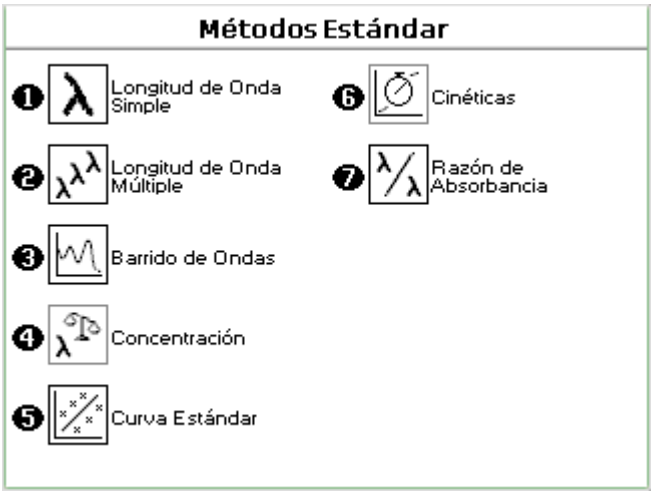
NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

Este método permite construir una curva de calibración multipunto a partir de estándares de concentración conocida que se puede utilizar a continuación para cuantificar muestras desconocidas. Este instrumento tiene la ventaja de que puede guardar esta curva como un método, utilizando hasta nueve estándares.

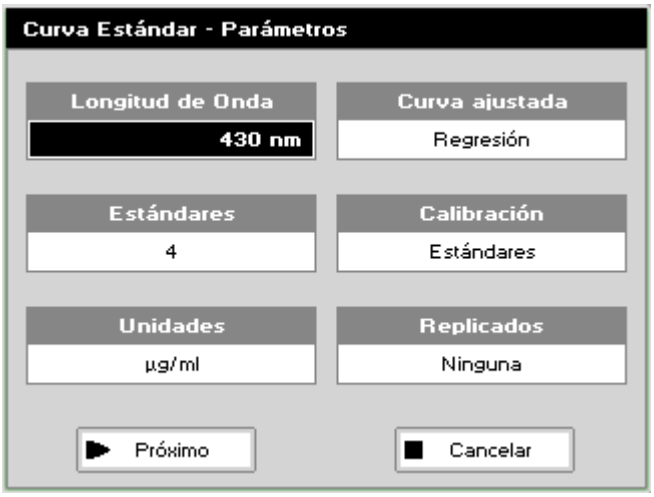
Si desea tener un estándar de concentración cero, inclúyalo en el número de estándares a introducir y escriba 0.00 para la concentración, utilizando un blanco de reactivo cuando sea necesario para introducir el estándar cero.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



2. Pulse 5 para abrir el método Curva Estándar.
   Aparecerá la pantalla Curva Estándar - Parámetros.



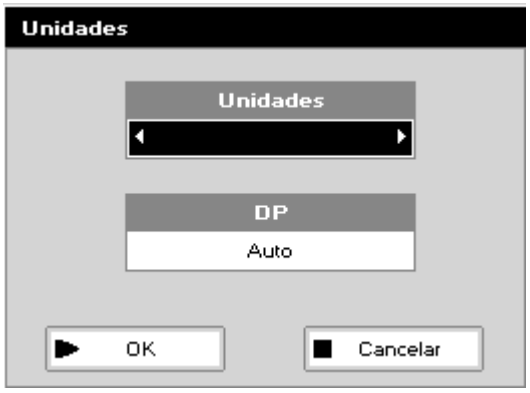
3. Introduzca la **Longitud de Onda** necesaria con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

4. Introduzca el número de **Estándares** a utilizar en la curva estándar y pulse después la flecha abajo.

   Las opciones disponibles son entre 1 y 9.

5. Introduzca las **Unidades** y pulse la flecha abajo.

   Puede introducir hasta 8 caracteres de texto a través del teclado o pulsar la tecla de opciones para ver la pantalla Unidades y acceder a una lista de unidades predefinidas.



   En la pantalla Unidades, utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una de las opciones disponibles. Las opciones son **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o ninguna.

   La pantalla Unidades también permite seleccionar el número de cifras decimales a mostrar (**DP**). Las opciones disponibles son **Auto**, **0**, **1** y **2**.

NOTA: El resultado siempre se fijará en 5 cifras significativas, independientemente del número de cifras decimales seleccionado (de modo que 98768,2 se verá siempre como 98768 aunque se seleccione 1 cifra decimal).

   Pulse **OK** para guardar sus opciones y volver a la pantalla Parámetros.

   Aún es posible editar las unidades, si se considera necesario.

6. Seleccione el tipo de **Curva Ajustada** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

   Las opciones son **Regresión al Cero** (que fuerza la línea recta a través del origen), **Regresión** (regresión en línea recta), **Interpolación** (interpolación lineal) o **Cubic Spline**.

7. Seleccione el modo **Calibración** utilizando las flechas izquierda y derecha.

   Las opciones son **Estándares** (para medir estándares preparados) o **Manual** (introducción de valores de absorbancia por teclado) o **Nuevos Estándares** (para sustituir estándares que ya hayan sido realizados).

8. Si ha seleccionado la opción **Estándares**, pulse la flecha abajo e introduzca el número de **Replicados**.

   Esto determina el número de estándares que se medirán y promediarán en cada punto de concentración estándar.

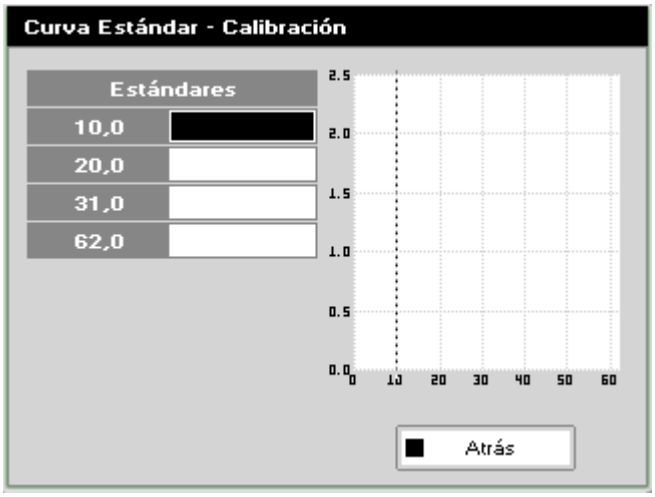
Las opciones disponibles son **Ninguna** (1), **1**, **2** ó **3**.

NOTA: Si ha seleccionado la opción **Manual** en el paso 7, no introduzca replicados.

9. Pulse **Próximo** .
   Aparecerá la pantalla Curva Estándar - Estándares.

10. Introduzca los valores de concentración de cada estándar con las teclas numéricas y las flechas arriba y abajo para pasar de un cuadro de estándar a otro.
    El intervalo disponible es de 0,001 a 9999.

11. Pulse **Próximo** .
    Aparecerá la pantalla Curva Estándar - Calibración.



NOTA: Si se introducen entradas duplicadas o no monotónicas en la pantalla Estándares, cuando se pulse **Próximo**, el instrumento emitirá una señal acústica y resaltará la entrada incorrecta.

12. Si ha seleccionado **Estándares**, introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.

    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

    O BIEN

    Si ha seleccionado la opción **Manual**, introduzca el valor de absorbancia conocido para cada concentración utilizando el teclado. Vaya al paso 15.

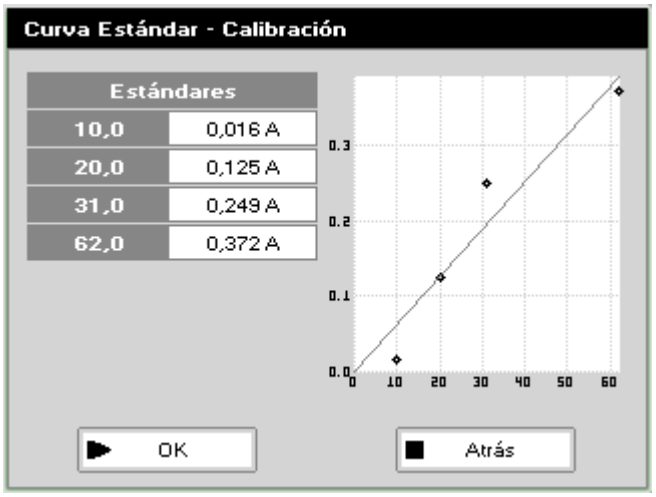
    El intervalo disponible es de 0,001 a 9999.

13. Introduzca el primer estándar y pulse ▶.

    Si hay replicados, pulse **Replicados** ▶ para verlos y después pulse ▶ para medir cada replicado.

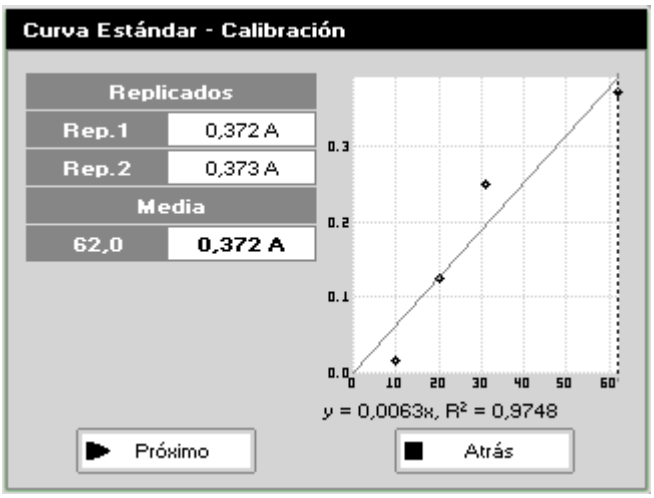
14. Repita el paso 13 con todos los estándares.

    Según se van realizando las mediciones se muestran en un gráfico los resultados y la curva ajustada (por ejemplo, Regresión al Cero).

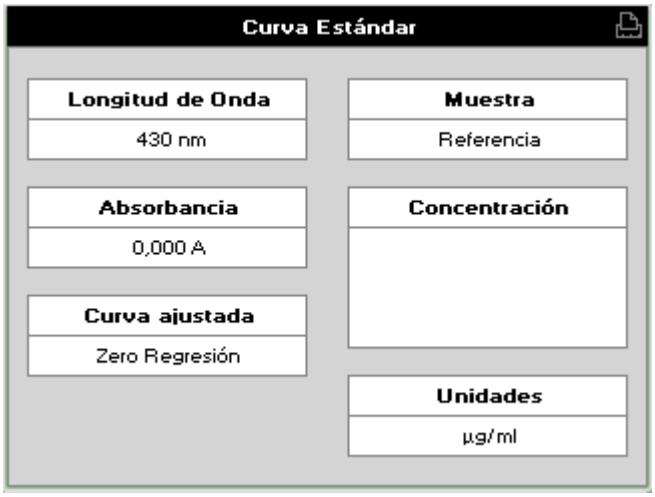


NOTA: Puede utilizar las flechas arriba y abajo para seleccionar la repetición de un estándar si ha obtenido una lectura deficiente. Pulse C para borrar la lectura existente antes de medir.

Si ha seleccionado **Replicados**, una vez medidos todos los replicados pulse **Próximo** para volver a la pantalla Estándares.



15. Pulse **OK** para aceptar la calibración.
Aparecerá la pantalla de resultados Curva Estándar.

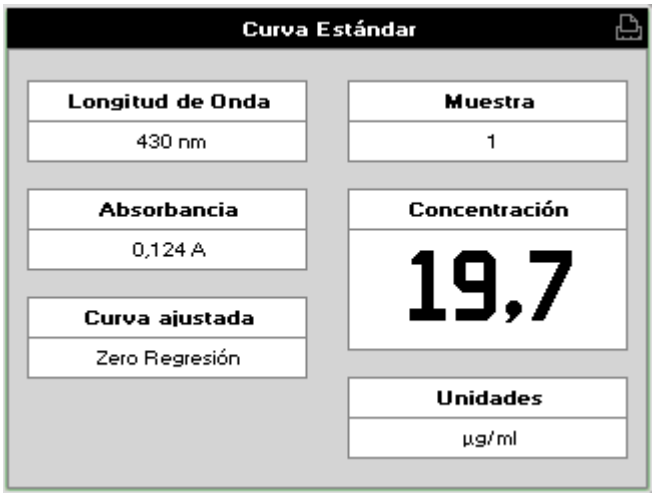


16. Si ha seleccionado la opción **Manual**, introduzca la muestra de referencia y pulse 0A/100%T.
Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

O BIEN

Si ha seleccionado Estándares, vaya al paso 17.

17. Introduzca la primera muestra y pulse ▶.
    Se mide la absorbancia de la muestra y se calcula y muestra su concentración.



18. Repita el paso 17 para cada muestra.

➢ Pulse la tecla ☰ para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime los datos en la pantalla de resultados (la tabla de absorbancia) a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico de calibración. El cursor muestra la absorbancia y los correspondientes valores de concentración de la última muestra medida.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** ▶ para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

➢ Pulse la tecla ☰ o la tecla ■ o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

➢ Pulse ■ para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

Cinéticas

NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

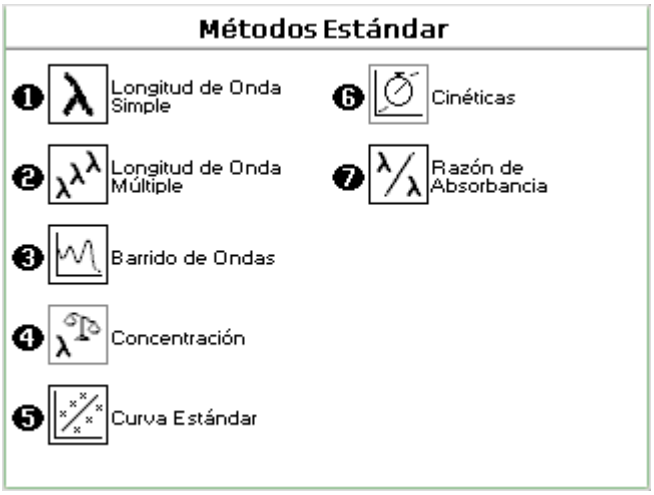
El método Cinéticas permite realizar estudios cinéticos en los que es necesario seguir la variación de absorbancia en función del tiempo a una longitud de onda fija.

Se utilizan de forma rutinaria kits de ensayo con reactivos para la determinación enzimática de compuestos en alimentos y bebidas en laboratorios clínicos midiendo la conversión NAD/NADH a 340 nm. Se puede utilizar la variación de absorbancia durante un período de tiempo concreto para proporcionar información útil cuando se aplique un factor apropiado, definido en el protocolo del kit de reactivos. La velocidad de reacción y la actividad enzimática se pueden calcular si el factor utilizado tiene en cuenta la diferencia de absorbancia por unidad de tiempo, en lugar de tan sólo la diferencia de absorbancia.

Por esta razón, se muestra la variación de absorbancia por minuto (ΔA/min), concentración (ΔA/min x factor) y coeficiente de correlación (calculada a partir del mejor ajuste de los puntos de datos) que pueden no ser relevantes para experimentos de cinética sencillos.

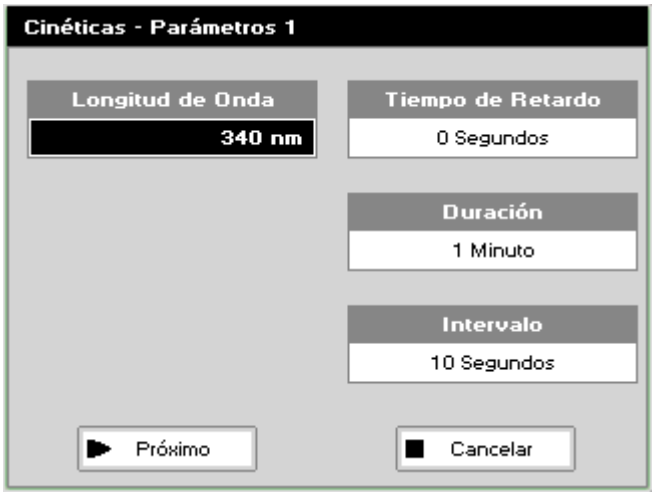
El procedimiento para definir un nuevo método es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



2. Pulse 6 para abrir el método Cinéticas.

   Aparecerá la pantalla Cinéticas - Parámetros 1.



3. Establezca la **Longitud de Onda** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

   El valor predeterminado es 340 nm.

4. Introduzca el **Tiempo de Retardo** en segundos antes de realizar las mediciones y pulse después la flecha abajo.

   Puede ser de como máximo 600 segundos (10 minutos).

5. Introduzca el tiempo durante el cual se realizarán las mediciones (**Duración**) en minutos y pulse después la flecha abajo.

   Puede ser de como máximo 60 minutos.

6. Introduzca el tiempo de **Intervalo** entre mediciones en segundos con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

   Las opciones son **1**, **2**, **5**, **10**, **15**, **20**, **30** ó **60** segundos.

7. Pulse **Próximo** .

   Aparecerá la pantalla Cinéticas - Parámetros 2.

8. Seleccione el **Modo** de medición utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

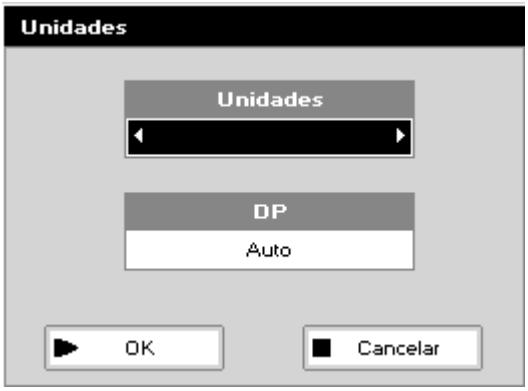
   Las opciones son **Delta A** (variación de absorbancia durante la medición o durante el período seleccionado), **Final A** (absorbancia al final de la medición o del tiempo seleccionado) y **Pendiente** (tasa de variación de la absorbancia durante la medición o el período seleccionado).

9. Introduzca las **Unidades** y pulse la flecha abajo.

   Puede introducir una cadena de texto de hasta 8 caracteres. Para acceder a una lista de unidades predefinidas en la pantalla Unidades, pulse la tecla de opciones y a continuación utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar el valor (**µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o ninguno). Estas unidades también se pueden editar después de pulsar **OK**.

   La pantalla Unidades también permite seleccionar el número de cifras decimales a mostrar (**DP**). Las opciones disponibles son **Auto**, **0**, **1** y **2**.

NOTA: El resultado siempre se fijará en 5 cifras significativas, independientemente del número de cifras decimales seleccionado (de modo que 98768,2 se verá siempre como 98768 aunque se seleccione 1 cifra decimal).



   Pulse **OK** para guardar sus opciones y volver a la pantalla Parámetros.

   Aún puede editar las unidades si lo considera necesario.

10. Establezca el **Factor** por el que se multiplicará el resultado para obtener la cantidad en el intervalo elegido utilizando las flechas izquierda y derecha.

    El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

11. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.

    Aparecerá la pantalla de resultados de Cinéticas.

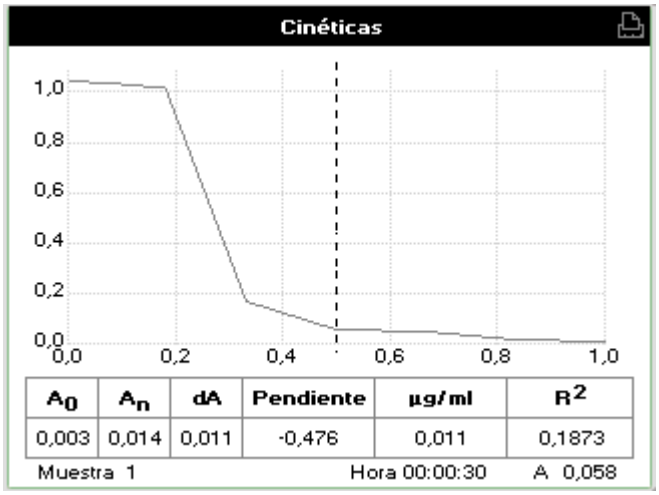
12. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A/100%T.

    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

13. Introduzca la primera muestra y pulse para iniciar la medición.

    En la parte inferior de la pantalla se muestra el tiempo de medición y en el gráfico se van trazando los datos de absorbancia a medida que avanza la medición.

    La tabla debajo del gráfico muestra $\mathbf{A_0}$, el valor de absorbancia en t_0 (inicio del cálculo); $\mathbf{A_n}$, el valor de absorbancia en t_n (final del cálculo); **dA**, la variación de absorbancia; la **Pendiente** y el parámetro de regresión ($\mathbf{R^2}$) de la pendiente calculada. La concentración se calcula utilizando los parámetros seleccionados en Parámetros 2 (**dA**, **Final A** o **Pendiente**); el nombre de la columna de la tabla **Resultado** depende de las unidades elegidas.



- Utilice las flechas izquierda y derecha para mover el cursor y mostrar el tiempo y el valor de absorbancia en los puntos de datos medidos.

- Utilice las flechas arriba y abajo para acercar o alejar el zoom.

➢ Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime los datos en la pantalla de resultados (la tabla de absorbancia) a través del método seleccionado.
3	Imprimir Datos	Imprime todos los datos.
4	Introd. t_0 con el cursor	Establece la posición t_0 (el punto inicial de la pendiente y de los cálculos dA) en la posición actual del cursor. Este valor se conserva para muestras posteriores.
5	Introd. t_n con el cursor	Establece la posición t_n (el punto final de la pendiente y de los cálculos dA) en la posición actual del cursor. Este valor se conserva para muestras posteriores.
6	Pendiente	Activa y desactiva la línea de pendiente calculada. **NOTA:** Si algún punto entre t_0 y t_n está fuera del intervalo del instrumento (es decir, entre >2,5 A y <−0,3 A), esta opción aparecerá sombreada en gris.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

➢ Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

➢ Pulse para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

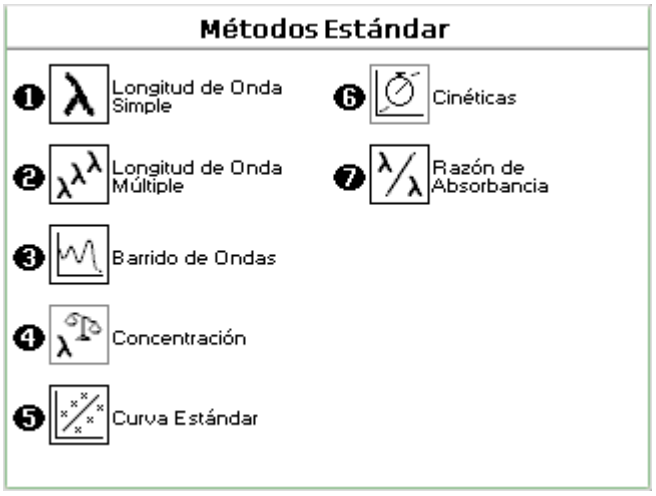
Razón de Absorbancia

NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio+.

El método Razón de Absorbancia realiza sencillas mediciones de la razón de absorbancia en las muestras midiendo la cantidad de luz que pasa por la muestra en relación con un blanco (que puede ser el aire) a dos longitudes de onda.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 1 para abrir la carpeta Métodos Estándar.
   Aparecerá la pantalla Métodos Estándar.



2. Pulse 7 para seleccionar el método Razón de Absorbancia.
   Aparecerá la pantalla Razón de Absorbancia - Longitudes de Onda.

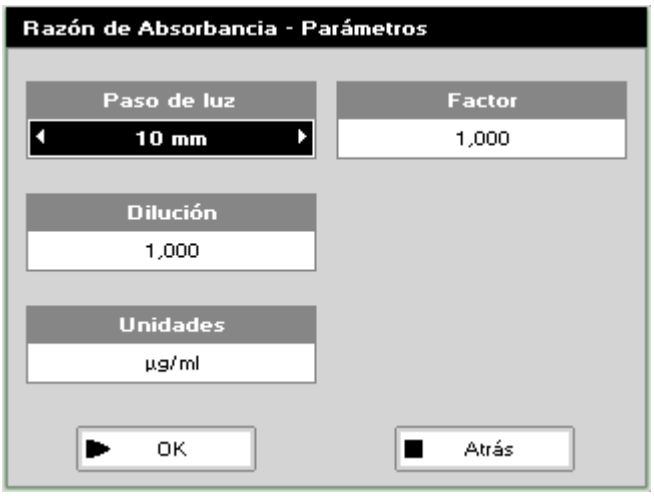
3. Establezca la **Longitud de Onda 1** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

4. Introduzca la **Longitud de Onda 2** como se ha indicado y pulse la flecha abajo.

5. Seleccione si se aplicará una corrección de **Fondo** a las longitudes de onda 1 y 2 utilizando las flechas izquierda y derecha.

6. Si la corrección de fondo está **On**, introduzca la **Longitud de Onda 3**, de la que se obtendrá la corrección.

7. Pulse **Próximo** .
   Aparecerá la pantalla Razón de Absorbancia - Parámetros.



8. Seleccione el **Paso de luz** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
   Las opciones disponibles son **5 mm** o **10 mm**.

9. Si conoce el factor de **Dilución**, introdúzcalo con las teclas numéricas, pulse la flecha abajo y vaya al paso 12.
   El intervalo disponible es de 1,00 a 9999.

   O BIEN

   Si el factor de dilución no se conoce, pulse la tecla de opciones para visualizar la pantalla Dilución.

10. Introduzca el **Volumen** de la muestra con las teclas numéricas y pulse la flecha abajo.
    El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

11. Introduzca el volumen de **Diluyente** con las teclas numéricas.
    El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

12. Pulse **OK** para calcular el factor de dilución y volver a la pantalla Parámetros.

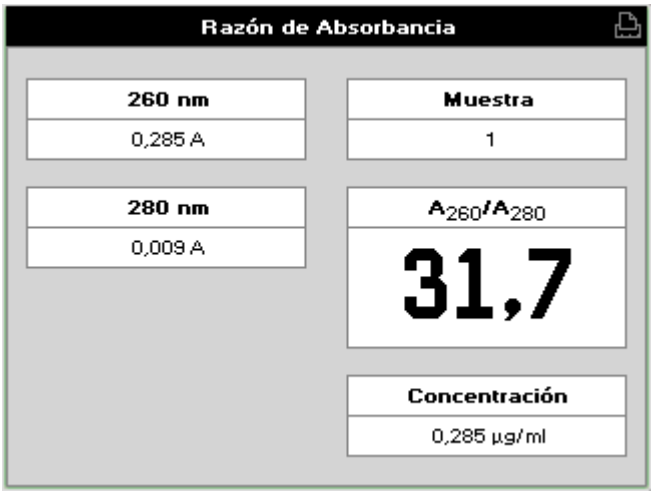
13. Seleccione las **Unidades** de medida utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
    Las opciones disponibles son **µg/ml**, **ng/µl** y **µg/µl**.

14. Introduzca el **Factor** con las teclas numéricas y pulse la flecha abajo.
    El intervalo disponible es de 0,001 a 9999.

15. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
    Aparecerá la pantalla de resultados de Razón de Absorbancia.

16. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

17. Introduzca la primera muestra y pulse .
    Se mide la absorbancia a las longitudes de onda seleccionadas, corregida por el valor de la longitud de onda de fondo si se ha seleccionado, y se calcula la relación entre las longitudes de onda 1 y 2.



18. Repita el paso 17 para cada muestra.

➢ Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico. El gráfico muestra un barrido de ondas en el intervalo de longitudes de onda medido, que están marcadas por cursores.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

➢ Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

➢ Pulse para volver a la carpeta Métodos Estándar una vez medidas todas las muestras.

Caracterización de ADN, ARN y oligonucleótidos

Introducción

El Lambda Bio/Bio+ incluye tres métodos para cuantificar ácidos nucleicos.

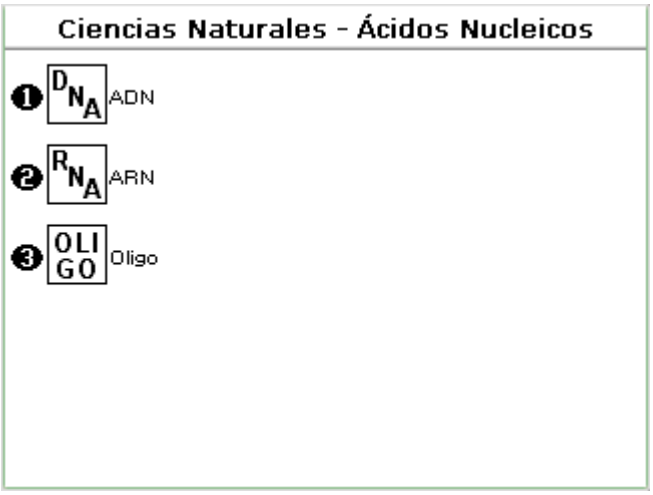


Figura 11 Pantalla de Ácidos Nucleicos del Lambda Bio+

Cuantificaciones de ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos se pueden cuantificar a 260 nm porque es un hecho establecido que una solución de ADN o ARN en una célula con un camino óptico de 10 mm y una densidad óptica de 1,0 tiene una concentración de 50 µg/ml o 40 µg/ml, respectivamente. Los oligonucleótidos tienen un factor de 33 µg/ml, aunque este varía según la composición base y se puede calcular si se conoce la secuencia base:

Concentración = A260 × Factor

El instrumento utiliza factores 50, 40 y 33 como valores predeterminados para ADN, ARN y oligonucleótidos, respectivamente, y compensa la dilución y el uso de células que no tienen un camino óptico de 10 mm; es posible introducir el factor de dilución y la longitud del camino óptico de la célula. En el método Oligo es posible calcular el factor a partir de las bases compuestas introduciendo las proporciones de las 4 bases.

Controles de pureza de los ácidos nucleicos

Para separar las impurezas proteínicas de los ácidos nucleicos extraídos de las células es necesario realizar una purificación extensiva. La relación A260/A280 proporciona simplemente una indicación de pureza que no puede tomarse como evaluación definitiva. Los preparados puros de ADN y ARN tienen una relación esperada de ≥1,8 y ≥2,0, respectivamente; una desviación de estas cifras indica la presencia de impurezas en la muestra, pero hay que ser cauteloso a la hora de interpretar los resultados.

El valor de 260 nm se obtiene cerca de la parte superior de un pico ancho del espectro de absorbancia de ácidos nucleicos. El valor de 280 nm se obtiene en una pendiente pronunciada, donde una pequeña variación de longitud de onda causa una gran variación de absorbancia y, en consecuencia, tiene sobre la relación A260/A280 un efecto mayor que las variaciones a 260 nm. De este modo, con diferentes instrumentos —ya sean del mismo tipo o diferentes— se pueden obtener relaciones ligeramente diferentes debido a variaciones de precisión de la longitud de onda. Pero cabe esperar que cada instrumento ofrezca resultados coherentes.

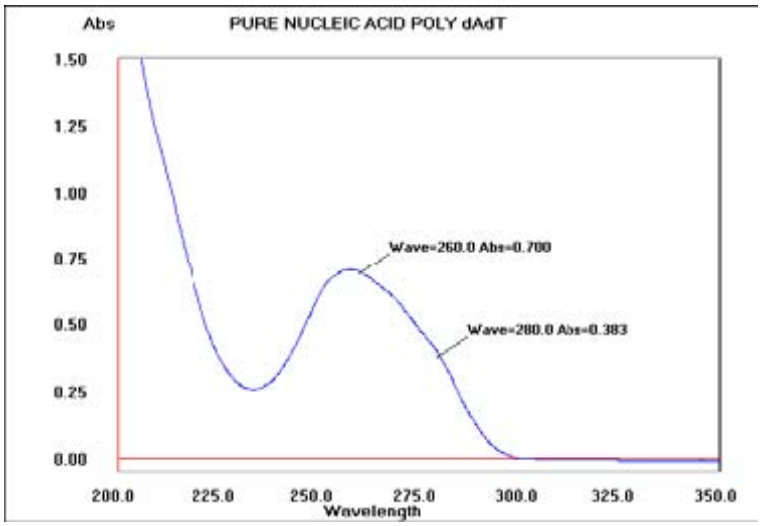


Figura 12 Barrido espectral del ácido nucleico

Véanse los siguientes puntos del espectro:

- Absorbancia máxima cerca de 260 nm y absorbancia mínima cerca de 230 nm.
- Pico plano cerca de 260 nm y pendiente pronunciada cerca de 280 nm.
- Absorbancia muy baja a 320 nm.

La concentración de la solución también afecta a la precisión de las lecturas de A260/A280. Si la solución está demasiado diluida, los valores estarán en el límite de detección del instrumento y los resultados podrán variar ya que el pico de 260 nm y la pendiente de 280 nm diferirán menos de la absorbancia de fondo. Esta es una de las razones por las que el valor de A260 debe ser superior a 0,1 A para mediciones de precisión.

Una absorbancia elevada de 230 nm también puede indicar la presencia de impurezas. La longitud de onda de 230 nm está cerca de la absorbancia máxima de los enlaces peptídicos. El AEDT y otras sales tampón absorben a esta longitud de onda. Cuando se miden muestras de ARN, la relación A260/A230 debe ser >2,0; una relación menor suele ser indicativa de contaminación por tiocianato de guanidinio, un reactivo muy utilizado en la purificación de ARN que absorbe en el intervalo de 230 a 260 nm. Un barrido de longitudes de onda del ácido nucleico es especialmente útil para las muestras de ARN.

Los métodos de ácido nucleico muestran las relaciones de A260/A280 y A260/A230 y compensan la dilución y el uso de células que no tienen un camino óptico de 10 mm; se puede introducir el factor de dilución y la longitud del camino óptico de la célula.

Uso de la corrección de fondo

A veces se utiliza la corrección de fondo a una longitud de onda totalmente separada del ácido nucleico y con picos de proteínas a 260 y 280 nm, respectivamente, para compensar los efectos de la absorbancia de fondo. La longitud de onda utilizada es de 320 nm y puede tener en cuenta los efectos de la turbidez y alta absorbancia de la solución tampón y el uso de células de apertura reducida. La corrección de fondo también puede eliminar la variabilidad introducida por la manipulación de células desechables de pequeño volumen.

Los métodos de ácido nucleico tienen la opción de utilizar corrección de fondo. Si la corrección de **Fondo** está **On**, se obtendrán resultados diferentes de los que se obtendrían con la corrección **Off**, porque la absorbancia a 320 nm se resta de la absorbancia a 280 y 230 nm, antes de calcular las relaciones de concentración o absorbancia:

Concentración = ($A260 - A320$) × Factor

Razón de absorbancia = ($A260 - A320$) / ($A280 - A320$)

Razón de absorbancia = ($A260 - A320$) / ($A230 - A320$)

Si su laboratorio no ha utilizado nunca corrección de fondo, ponga esta opción en **Off**.

ADN

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 2 para abrir la carpeta Ciencias Naturales (sólo Lambda Bio+).
2. Pulse 1 para abrir la carpeta Ácidos Nucleicos (sólo Lambda Bio+).
3. Pulse 1 para abrir el método ADN.
   Aparecerá la pantalla ADN - Parámetros.

4. Seleccione el **Paso de luz** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
   Las opciones disponibles son **0,5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).

5. Si conoce el factor de **Dilución**, introdúzcalo con las teclas numéricas y vaya al paso 9.
   El intervalo disponible es de 1,00 a 9999.

   O BIEN

   Si desconoce el factor de **Dilución**, pulse .
   Aparecerá la pantalla Dilución.

6. Introduzca el **Volumen** de la muestra con las teclas numéricas y pulse la flecha abajo.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

7. Introduzca el volumen de **Diluyente** con las teclas numéricas.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

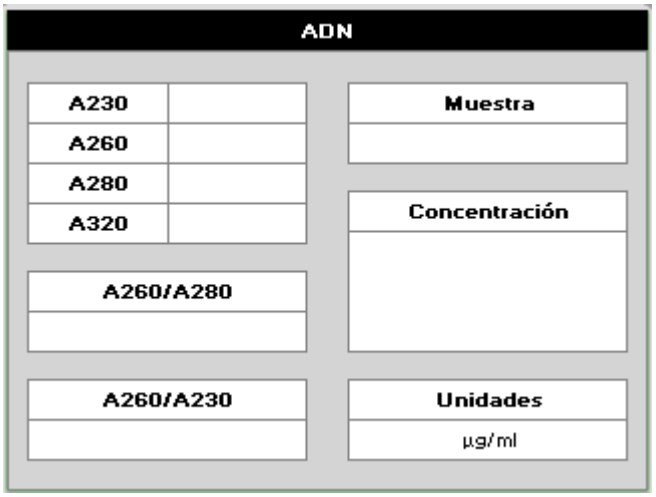
8. Pulse **OK** para calcular el factor de dilución y volver a la pantalla Parámetros.

9. Seleccione si la corrección de **Fondo** a 320 nm está **On** u **Off** utilizando las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

10. Seleccione las **Unidades** de medida utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
    Las opciones disponibles son **µg/ml**, **ng/µl** y **µg/µl**.

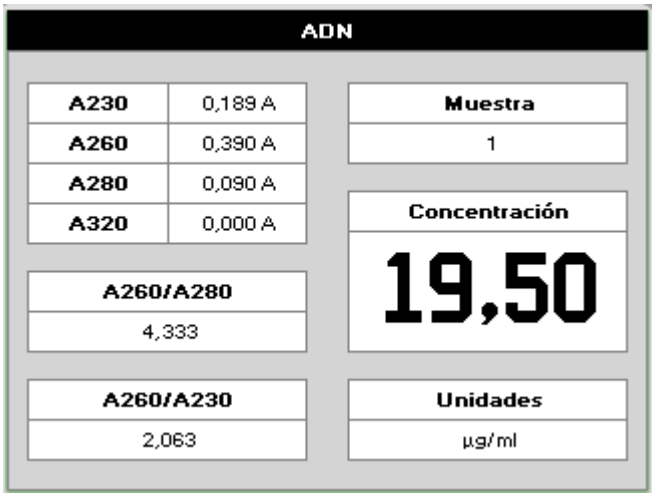
11. Introduzca el **Factor** con las teclas numéricas.
    El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

12. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
    Aparecerá la pantalla de resultados de ADN.



13. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

14. Introduzca la primera muestra y pulse .
    Se miden las absorbancias a 260 nm y 280 nm, corregidas por el valor de la longitud de onda de fondo (320 nm) si se ha seleccionado, y se calcula la relación entre las dos absorbancias. Se calcula la concentración basada en la absorbancia de 260 nm.



15. Repita el paso 14 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con los números del teclado:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico. El gráfico muestra un espectro en el intervalo de 220 nm a 320 nm con cursores que indican 230 nm, 260 nm, 280 nm y (si se ha seleccionado la corrección de fondo) 320 nm.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Ácidos Nucleicos (Lambda Bio+) o a la página de inicio (Lambda Bio).

ARN

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 2 para abrir la carpeta Ciencias Naturales (sólo Lambda Bio+).
2. Pulse 1 para abrir la carpeta Ácidos Nucleicos (sólo Lambda Bio+).
3. Pulse 2 para abrir el método ARN.
   Aparecerá la pantalla ARN - Parámetros.

4. Seleccione el **Paso de luz** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
   Las opciones disponibles son **0,5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).
5. Si conoce el factor de **Dilución**, introdúzcalo con las teclas numéricas y vaya al paso 9.
   El intervalo disponible es de 1,00 a 9999.

   O BIEN

   Si desconoce el factor de **Dilución**, pulse .
   Aparecerá la pantalla Dilución.

6. Introduzca el **Volumen** de la muestra con las teclas numéricas y pulse la flecha abajo.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

7. Introduzca el volumen de **Diluyente** con las teclas numéricas.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

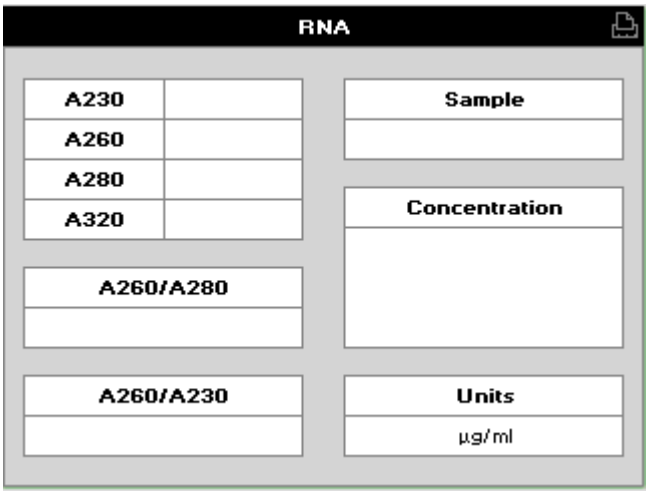
8. Pulse **OK** para calcular el factor de dilución y volver a la pantalla Parámetros.

9. Seleccione si se utiliza la corrección de fondo a 320 nm o no, utilizando las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

10. Seleccione las **Unidades** de medida utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
    Las opciones disponibles son **µg/ml**, **ng/µl** y **µg/µl**.

11. Introduzca el **Factor** con las teclas numéricas.
    El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

12. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
    Aparecerá la pantalla de resultados de ARN.



13. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

14. Introduzca la primera muestra y pulse .

    Se miden las absorbancias a 260 nm y 280 nm, corregidas por el valor de la longitud de onda de fondo (320 nm) si se ha seleccionado, y se calcula la relación entre las dos absorbancias. Se calcula la concentración basada en la absorbancia de 260 nm.

15. Repita el paso 14 para cada muestra.

➢ Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico. El gráfico muestra un espectro en el intervalo de 220 nm a 320 nm con cursores que indican 230 nm, 260 nm, 280 nm y (si se ha seleccionado la corrección de fondo) 320 nm.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

➢ Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

➢ Pulse para volver a la carpeta Ácidos Nucleicos (Lambda Bio+) o a la página de inicio (Lambda Bio).

Oligonucleótidos

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 2 para abrir la carpeta Ciencias Naturales (sólo Lambda Bio+).
2. Pulse 1 para abrir la carpeta Ácidos Nucleicos (sólo Lambda Bio+).
3. Pulse 3 para abrir el método Oligo.
   Aparecerá la pantalla Oligo - Parámetros.

4. Seleccione el **Paso de luz** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
   Las opciones disponibles son **0,5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).
5. Si conoce el factor de **Dilución**, introdúzcalo con las teclas numéricas y vaya al paso 9.
   El intervalo disponible es de 1,00 a 9999.

   O BIEN

   Si desconoce el factor de **Dilución**, pulse .
   Aparecerá la pantalla Dilución.

6. Introduzca el **Volumen** de la muestra con las teclas numéricas y pulse la flecha abajo.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

7. Introduzca el volumen de **Diluyente** con las teclas numéricas.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

8. Pulse **OK** para calcular el factor de dilución y volver a la pantalla Parámetros.

9. Seleccione si la corrección de **Fondo** a 320 nm está **On** u **Off** utilizando las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

10. Seleccione las **Unidades** de medida utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
    Las opciones disponibles son **µg/ml**, **ng/µl** y **pmol/µl**.

11. Si las unidades son µg/ml, ng/µl o µg/µl, introduzca el **Factor** con las teclas numéricas.
    El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

    O BIEN

    Si las unidades son pmol/µl, el factor cambia a una tabla de selección que presenta las relaciones de las cuatro bases de la estructura. Introduzca las valores de las bases **A**, **C**, **G** y **T** presentes con las teclas numéricas y las flechas arriba y abajo para pasar de un cuadro a otro.
    El intervalo disponible es de 0 a 9999.

12. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
    Aparecerá la pantalla de resultados de Oligo.

13. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

14. Introduzca la primera muestra y pulse .

    Se miden las absorbancias a 260 nm y 280 nm, corregidas por el valor de la longitud de onda de fondo (320 nm) si se ha seleccionado, y se calcula la relación entre las dos absorbancias. Se calcula la concentración basada en la absorbancia de 260 nm.

15. Repita el paso 14 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico. El gráfico muestra un espectro en el intervalo de 220 nm a 320 nm con cursores que indican 230 nm, 260 nm, 280 nm y (si se ha seleccionado la corrección de fondo) 320 nm.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Ácidos Nucleicos (Lambda Bio+) o a la página de inicio (Lambda Bio).

Determinaciones de proteínas

El Lambda Bio/Bio+ incluye cinco métodos para determinar proteínas (Figura 13).

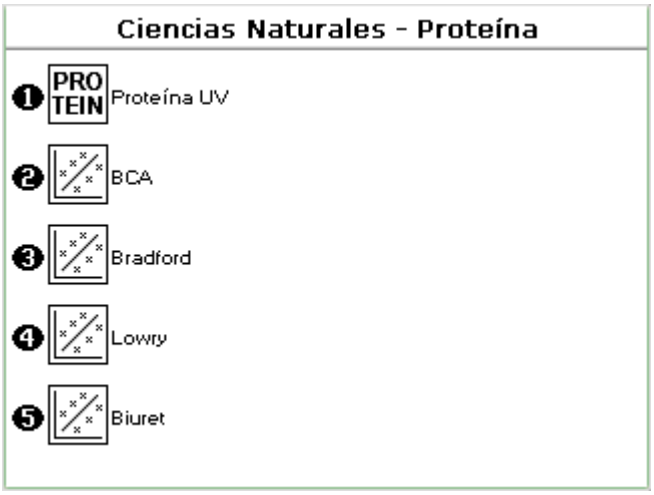


Figura 13 Pantalla de métodos de determinación de proteínas

Determinación de proteínas a 280 nm

La concentración de proteínas se puede determinar en el UV próximo a 280 nm debido a la absorbancia por los aminoácidos tirosina, triptófano y fenilalanina. La absorbancia a 280 nm varía mucho según las diferentes proteínas debido a su contenido de aminoácidos y, en consecuencia, hay que determinar el valor de absorbancia específico de una determinada proteína.

La presencia de ácido nucleico en la solución proteínica puede tener un efecto significativo debido a la fuerte absorbancia de nucleótidos a 280 nm. Esto se puede compensar midiendo la absorbancia a 260 nm (A260) y aplicando la ecuación de Christian y Warburg para la enolasa de levadura de proteína cristalina (*Biochemische Zeitung*, 1941, 310, 384):

$$\text{Proteína (mg/ml)} = 1{,}55 \times A280 - 0{,}76 \times A260$$

Es decir:

$$\text{Concentración de proteína} = (\text{Factor } 1 \times A280) - (\text{Factor } 2 \times A260)$$

Esta ecuación puede aplicarse a otras proteínas si se conocen los factores correspondientes. El instrumento determina la concentración de proteína a 280 nm y utiliza la ecuación anterior de forma predeterminada. Los factores se pueden modificar y el uso de la corrección de fondo a 320 nm es opcional.

Para adaptar la ecuación a una proteína concreta deben determinarse los valores de absorbancia a 260 y 280 nm con concentraciones de proteína conocidas para generar ecuaciones simples simultáneas. Resolviéndolas se obtienen los dos coeficientes. Si el Factor 2 resulta negativo, deberá ponerse a cero ya que significa que no hay contribución a la concentración de proteína debido a la absorbancia a 260 nm.

Establezca el Factor 2 = 0,00 para una medición directa de proteína UV a 280 nm. El Factor 1 se basa en el coeficiente de extinción de la proteína. Si la albúmina sérica bovina (ASB) es un estándar aceptable, ajustando el Factor 1 = 1,115 se obtendrán resultados lineales de 0 a 0,8 mg/ml de proteína.

$$\text{Proteína (mg/ml)} = 1{,}115 \times \text{A280}$$

Las mediciones rápidas como ésta a 280 nm son especialmente útiles después de aislar proteínas y péptidos de las mezclas utilizando columnas Spin y HiTrap por centrifugado y gravedad, respectivamente.

Determinación de proteínas a 595, 546, 562 y 750 nm

El método Bradford está basado en la cuantificación de la unión de un tinte (Azul Brillante Coomassie) a una proteína desconocida y de la comparación de esta unión a la de concentraciones diferentes y conocidas de una proteína estándar a 595 nm, que suele ser la albúmina sérica bovina (ASB).

El método Biuret depende de la reacción entre iones cúpricos y enlaces peptídicos en una solución alcalina, que da lugar a la formación de un complejo que absorbe a 546 nm.

El método BCA también depende de la reacción entre iones cúpricos y enlaces peptídicos pero además combina esta reacción con la detección de iones cuprosos utilizando ácido bicinconínico (BCA), que da una absorbancia máxima a 562 nm. El proceso BCA es menos sensible a la presencia de los detergentes utilizados para romper paredes celulares.

El método Lowry depende de la cuantificación del color obtenido en la reacción del reactivo fenólico de Folin-Ciocalteu con los residuos de tirosina de una proteína desconocida y de la comparación con el resultado de una curva estándar de una proteína estándar a 750 nm, normalmente ASB.

- Con estos kits de ensayo se entregan protocolos detallados que deben cumplirse estrictamente para obtener resultados precisos.

- Se recomienda utilizar células desechables de plástico. Para utilizar un estándar de concentración cero, inclúyalo en el número de estándares a introducir y escriba 0.00 como valor de concentración; utilícelo cuando sea necesario para introducir el estándar 1.

- Se realiza un análisis de regresión lineal de los puntos de datos del estándar de calibración; el resultado, junto con el coeficiente de correlación, se puede imprimir. Un coeficiente de correlación de entre 0,95 y 1,00 indica una buena línea recta.

Métodos de proteínas

Proteína UV

Este método utiliza el ensayo de Christian y Warburg.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 2 para abrir la carpeta Ciencias Naturales (sólo Lambda Bio+).
2. Si el instrumento es un Lambda Bio, pulse 6 para abrir la carpeta Proteínas.

   O BIEN

   Si el instrumento es un Lambda Bio+, pulse 2 para abrir la carpeta Proteínas.
3. Pulse 1 para abrir el método Proteína UV.
   Aparecerá la pantalla Proteína UV - Parámetros.

4. Seleccione el **Paso de luz** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.
   Las opciones disponibles son **0,5 mm**, **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio), o **5 mm** o **10 mm** (Lambda Bio+).

5. Si conoce el factor de **Dilución**, introdúzcalo con las teclas numéricas, pulse la flecha abajo y vaya al paso 9.
   El intervalo disponible es de 1,00 a 9999.

   O BIEN

   Si el factor de dilución no se conoce, pulse la tecla de opciones para visualizar la pantalla Dilución.

6. Introduzca el **Volumen** de la muestra con las teclas numéricas y pulse la flecha abajo.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

7. Introduzca el volumen de **Diluyente** con las teclas numéricas.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

8. Pulse **OK** para calcular el factor de dilución y volver a la pantalla Parámetros.

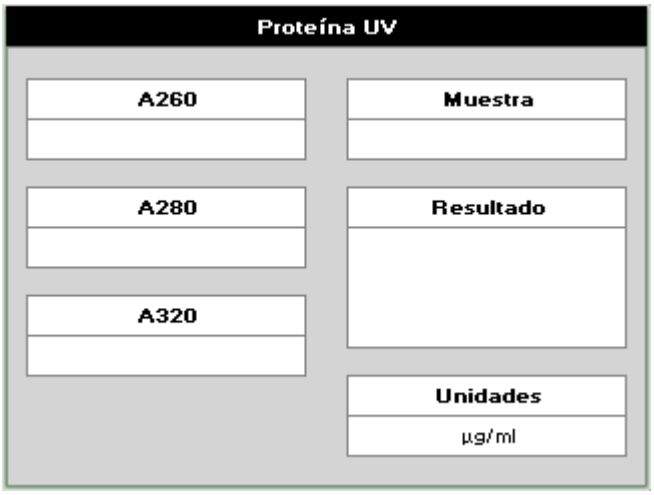
9. Seleccione si se utilizará la corrección de **Fondo** a 320 nm (**ON**) o no (**OFF**), utilizando las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

10. Introduzca el **Factor A260 nm** con las teclas numéricas y pulse a continuación la flecha abajo.
    El intervalo disponible es de 0 a 9999.

11. Introduzca el **Factor A280 nm** con las teclas numéricas y pulse a continuación la flecha abajo.
    El intervalo disponible es de 1,00 a 9999.

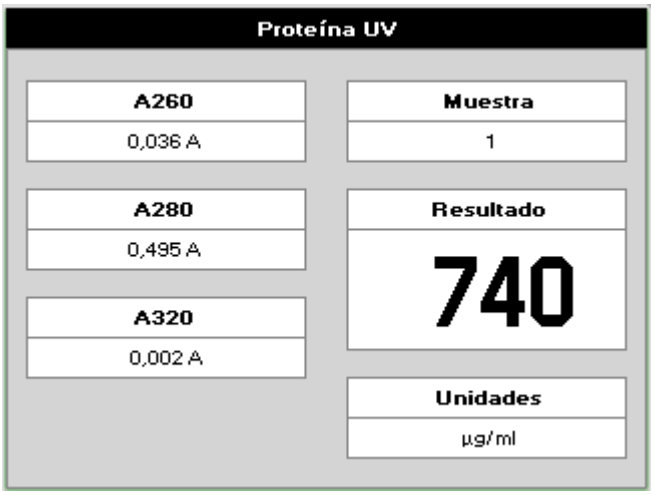
12. Seleccione las **Unidades** de medida utilizando las flechas izquierda y derecha.
    Las opciones disponibles son **µg/ml**, **ng/µl** y **µg/µl**.

13. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
    Aparecerá la pantalla de resultados Proteína UV.



14. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

15. Introduzca la primera muestra y pulse .
    Se miden las absorbancias a 260 nm y 280 nm, corregidas por el valor de la longitud de onda de fondo (320 nm) si se ha seleccionado la corrección de fondo, y se calcula la concentración de la proteína.



16. Repita el paso 15 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método (paso 1 anterior).
2	Imprimir	Imprime el resultado a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico. El gráfico muestra un espectro en el intervalo de 250 nm a 320 nm con cursores que indican 230 nm, 260 nm, 280 nm y (si se ha seleccionado la corrección de fondo) 320 nm.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Proteínas una vez realizadas todas las mediciones.

BCA, Bradford, Lowry y Biuret

NOTA: Aquí sólo se describe el método BCA. El procedimiento para los métodos Bradford, Lowry y Biuret es idéntico salvo en la longitud de onda de medición. Para más detalles, ver *Determinación de proteínas a 595, 546, 562 y* 750 nm en la página 87.

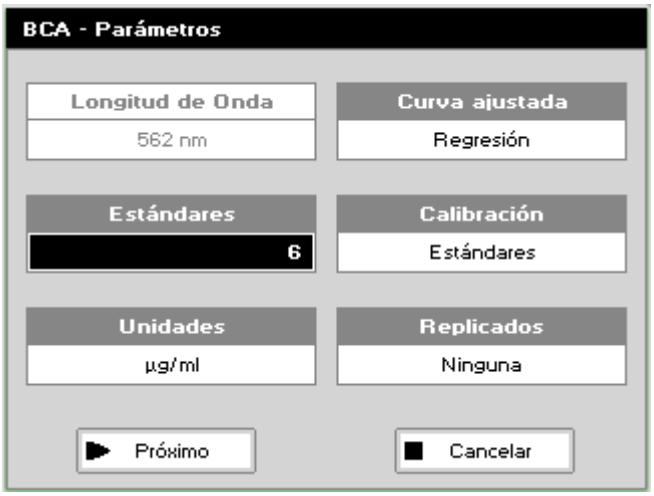
El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 2 para abrir la carpeta Ciencias Naturales (sólo Lambda Bio+).
2. Si el instrumento es un Lambda Bio, pulse 6 para abrir la carpeta Proteínas.

   O BIEN

   Si el instrumento es un Lambda Bio+, pulse 2 para abrir la carpeta Proteínas.

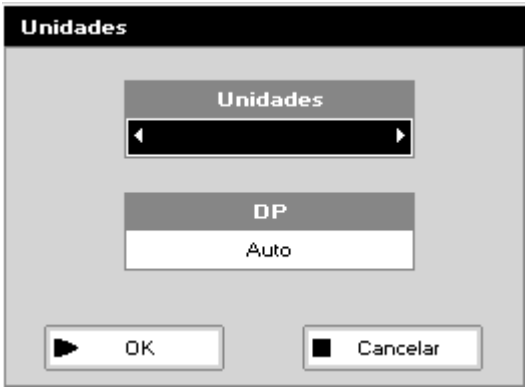
3. Pulse 2 para abrir el método BCA.
   Aparecerá la pantalla BCA - Parámetros.



   La **Longitud de Onda** de este método se establece en 562 nm.

4. Introduzca el número de **Estándares** (1-9) que se utilizarán en la curva con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

5. Introduzca las **Unidades** y pulse la flecha abajo.
   Puede introducir hasta 8 caracteres a través del teclado o pulsar la tecla de opciones para ver la pantalla Unidades y acceder a una lista de unidades predefinidas.



   En la pantalla Unidades, utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una de las opciones disponibles. Las opciones son **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o ninguna.

   La pantalla Unidades también permite seleccionar el número de cifras decimales a mostrar (**DP**). Las opciones disponibles son **Auto**, **0**, **1** y **2**.

NOTA: El resultado siempre se fijará en 5 cifras significativas, independientemente del número de cifras decimales seleccionado (de modo que 98768,2 se verá siempre como 98768 aunque se seleccione 1 cifra decimal).

   Pulse **OK** para guardar sus opciones y volver a la pantalla Parámetros.

   Aún es posible editar las unidades, si se considera necesario.

6. Seleccione el tipo de **Curva Ajustada** utilizando las flechas izquierda y derecha y a continuación pulse la flecha abajo.

   Las opciones son **Regresión** (regresión en línea recta), **Regresión al Cero** (que fuerza la línea recta a través del origen), **Interpolación** (interpolación lineal) o **Cubic Spline**.

7. Seleccione el modo **Calibración**.

   Las opciones son **Estándares** (para medir estándares preparados) o **Manual** (introducción de valores de absorbancia por teclado) o **Nuevos Estándares** (para sustituir estándares que ya hayan sido realizados).

8. Si ha seleccionado la opción **Estándares**, pulse la flecha abajo e introduzca el número de **Replicados**.

   Esto determina el número de estándares que se medirán y promediarán en cada punto de concentración estándar.

   Las opciones disponibles son **Ninguna** (1), **1**, **2** ó **3**.

NOTA: Si ha seleccionado la opción **Manual** en el paso 7, no introduzca replicados.

9. Pulse **Próximo** .

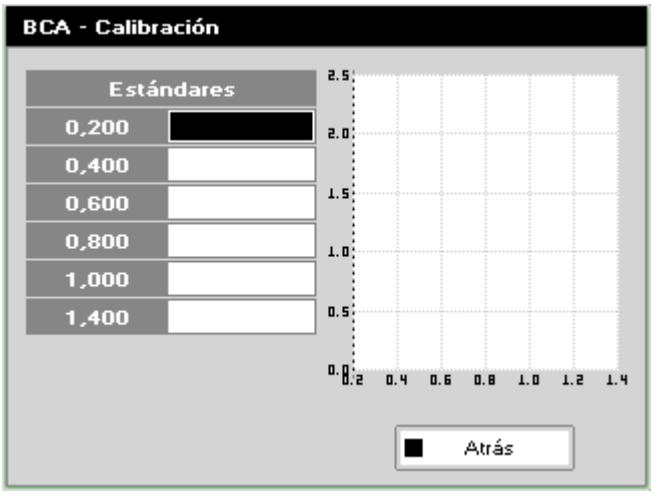
   Aparecerá la pantalla BCA - Estándares.

10. Introduzca los valores de concentración con las teclas numéricas y las flechas arriba y abajo para pasar de un cuadro de estándar a otro.

    El intervalo disponible es de 0,001 a 9999.

11. Pulse **Próximo** .

    Aparecerá la pantalla BCA - Calibración.



NOTA: Si se introducen entradas duplicadas o no monotónicas en la página de Estándares, al pulsar **Próximo** el instrumento emitirá una señal acústica y resaltará la entrada incorrecta.

12. Si ha seleccionado **Estándares**, introduzca la muestra de referencia y pulse
.

    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

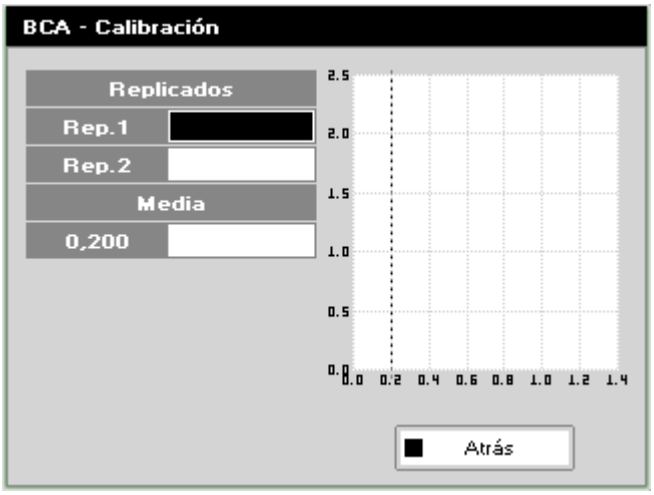
    O BIEN

    Si ha seleccionado la opción **Manual**, introduzca el valor de absorbancia conocido para cada concentración utilizando el teclado. Vaya al paso 15.

    El intervalo disponible es de 0,001 a 9999.

13. Introduzca el primer estándar y pulse .

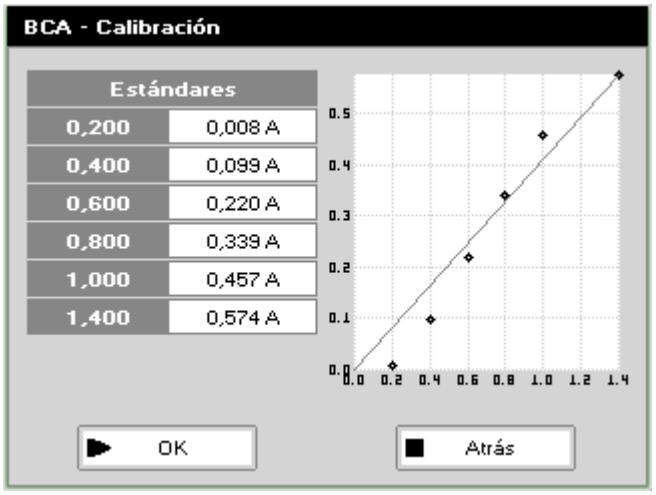
    Si hay replicados, pulse **Replicados** para verlos y después pulse para medir cada replicado.



14. Repita el paso 13 con todos los estándares.

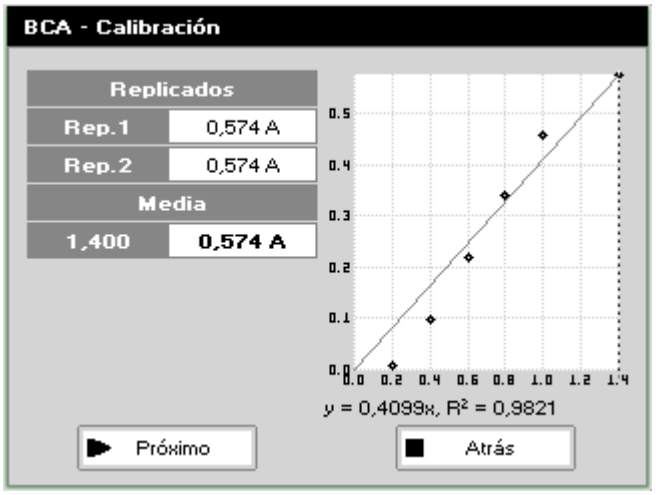
    Según se vayan realizando las mediciones se mostrarán en un gráfico los resultados y la curva ajustada (por ejemplo, Regresión al Cero).

    Según se vayan realizando las mediciones se mostrarán en un gráfico los resultados y la curva ajustada.



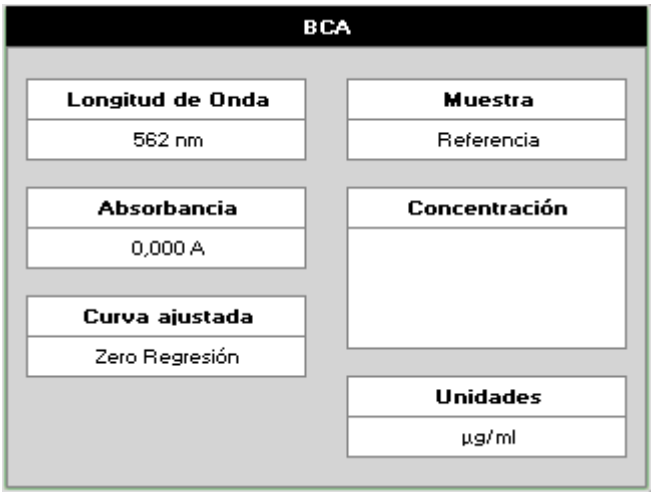
NOTA: Puede utilizar las flechas arriba y abajo para seleccionar la repetición de un estándar si ha obtenido una lectura deficiente. Pulse C para borrar la lectura existente antes de medir.

Si ha seleccionado **Replicados**, una vez medidos todos los replicados, pulse **Próximo** para volver a la pantalla Estándares.



15. Pulse **OK** para aceptar la calibración.

Aparecerá la pantalla de resultados de BCA.

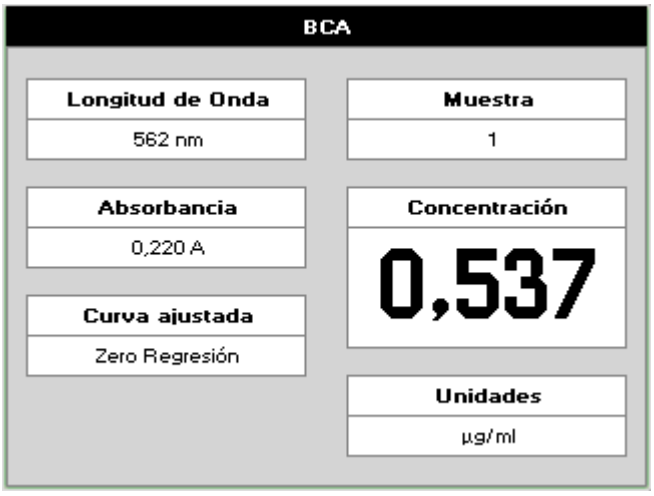


16. Si ha seleccionado la opción **Manual**, introduzca la muestra de referencia y pulse 0A / 100%T.
    Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

    O BIEN

    Si ha seleccionado Estándares, vaya al paso 17.

17. Introduzca la primera muestra y pulse ▶.
    Se mide la absorbancia de la muestra y se calcula y muestra su concentración.



18. Repita el paso 17 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
3	Mostrar Gráfico	Activa y desactiva el gráfico de calibración. El cursor muestra la absorbancia y los correspondientes valores de concentración de la última muestra medida.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la carpeta Proteínas una vez realizadas todas las mediciones.

Medición de absorbancia y concentración

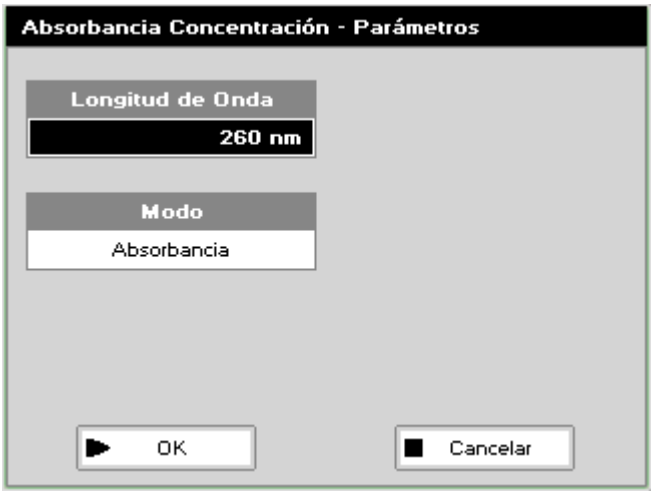
NOTA: Este método sólo está disponible en el instrumento Lambda Bio.

El método de medición de Absorbancia y Concentración tiene dos funciones:

- Realizar mediciones de absorbancia (A) en las muestras, midiendo la cantidad de luz que pasa por la muestra en relación con una referencia (que puede ser el aire).
- Realizar mediciones sencillas de concentración en las muestras midiendo la cantidad de luz que pasa por la muestra en relación con una referencia (que puede ser el aire). La concentración se determina multiplicando la absorbancia medida a una longitud de onda específica por un factor. Este factor puede ser conocido de antemano o puede ser calculado por el instrumento midiendo estándares de concentración conocida.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 4 para seleccionar el modo Absorbancia Concentración.
   Aparecerá la pantalla Absorbancia Concentración - Parámetros.



2. Establezca la **Longitud de Onda** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.

3. Seleccione el **Modo** utilizando las flechas izquierda y derecha.
   Las opciones disponibles son **Absorbancia**, **Factor** o **Estándar**.
   El modo Absorbancia se limita a medir la absorbancia. El modo Factor mide la absorbancia y a continuación calcula la concentración utilizando un factor conocido. El modo Estándar permite determinar el factor midiendo una solución de concentración conocida y calcular después la concentración.

4. Si ha seleccionado **Absorbancia**, vaya al paso 7.

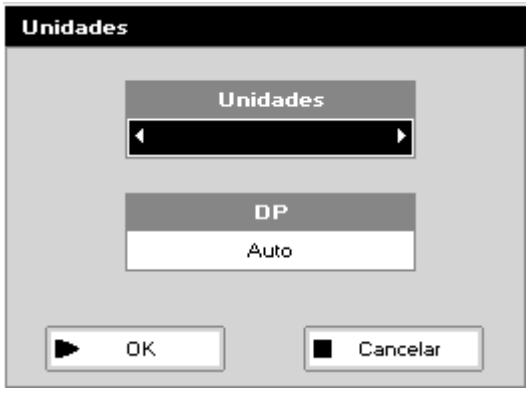
   O BIEN

   Si ha seleccionado **Factor**, introduzca el factor con las teclas numéricas.
   El intervalo disponible es de 0,001 a 9999.

   O BIEN

   Si ha seleccionado **Estándar**, introduzca la concentración con las teclas numéricas.
   El intervalo disponible es de 0,01 a 9999.

5. Introduzca las **Unidades** y pulse la flecha abajo.
   Puede introducir hasta 8 caracteres a través del teclado o pulsar la tecla de opciones para ver la pantalla Unidades y acceder a una lista de unidades predefinidas.



   En la pantalla Unidades utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una de las opciones disponibles. Las opciones son **µg/ml, µg/µl**, **pmol/µl**, **mg/dl**, **mmol/l**, **µmol/l**, **g/l**, **mg/l**, **µg/l**, **U/l**, **%**, **ppm**, **ppb**, **conc** o ninguna.

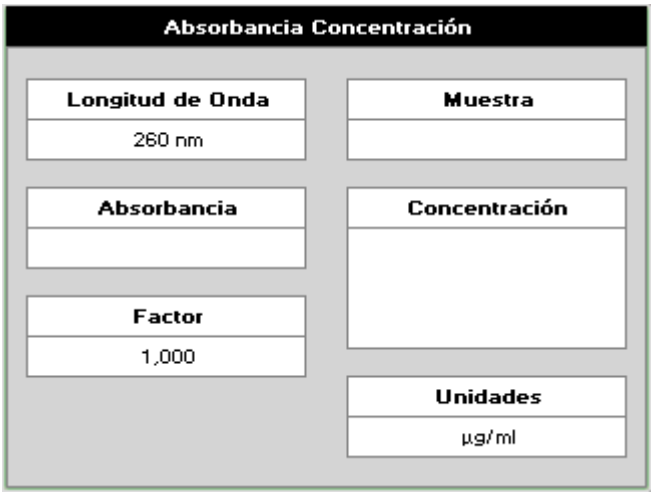
   La pantalla Unidades también permite seleccionar el número de cifras decimales a mostrar (**DP**). Las opciones disponibles son **Auto**, **0**, **1** y **2**.

NOTA: El resultado siempre se fijará en 5 cifras significativas, independientemente del número de cifras decimales seleccionado (de modo que 98768,2 se verá siempre como 98768 aunque se seleccione 1 cifra decimal).

   Pulse **OK** para guardar sus opciones y volver a la pantalla de Absorbancia Concentración - Parámetros.

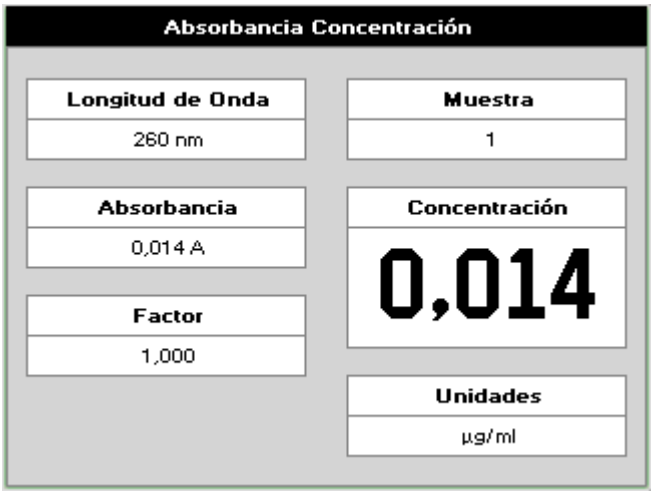
   Aún es posible editar las unidades, si se considera necesario.

6. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
   Aparecerá la pantalla de resultados de Absorbancia Concentración.
   La pantalla de resultados del modo Factor es la siguiente:



7. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
   Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

8. Para las mediciones en los modos Absorbancia y Factor, introduzca la muestra y pulse . A continuación vaya al paso 11.
   Aparecerá la absorbancia o concentración de la muestra.

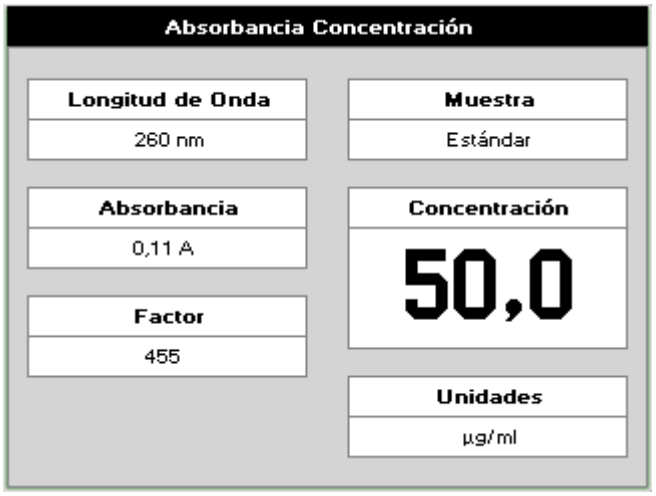


   O BIEN

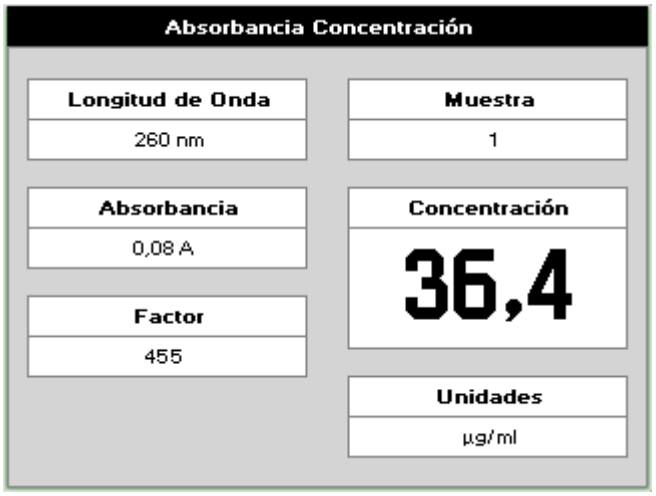
   Para mediciones de estándares, introduzca el estándar y pulse .

Aparecerá la pantalla Medir estándar.

9. Pulse **Medir** para medir el estándar.
   Aparecerá el Factor calculado.



10. Introduzca la primera muestra y pulse .
    Aparecerá la concentración de la muestra.



11. Repita el paso 10 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con las teclas numéricas:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
4.	Medir estándar	Vuelve a la pantalla Medir estándar.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse para volver a la página de inicio.

Medición de cultivos celulares bacterianas (OD 600)

Los cultivos bacterianos se realizan de forma rutinaria hasta que la absorbancia a 600 nm (conocida como OD 600) alcanza aproximadamente 0,4 A antes de la inducción o de la recolección. Existe una relación lineal entre el número de células (o su densidad) y OD 600 de hasta aproximadamente 0,6 A.

Es importante señalar que con muestras turbias como los cultivos celulares, la absorbancia medida se debe a la dispersión de la luz y no al resultado de la absorción molecular. El grado de dispersión depende de la óptica del sistema (distancia entre el portacélulas y la rendija de salida del instrumento, la geometría de esta rendija y la óptica del monocromador). Por lo tanto, diferentes tipos de espectrofotómetros tendrán diferentes respuestas ante la misma muestra turbia. Para comparar los resultados, estos deben ser normalizados por medio de curvas de calibración.

Una curva de calibración se puede determinar comparando el valor OD 600 medido con el valor OD 600 esperado. El OD 600 esperado se determina contando el número de células con una técnica alternativa (por ejemplo, el método de portaobjetos en microscopio) y convirtiendo el resultado a OD 600 con la norma empírica de 1 OD 600 = 8×10^8 células/ml para E. Coli.

El instrumento Lambda Bio/Bio+ tiene una óptica mucho más pequeña que la mayoría de los espectrofotómetros convencionales y transmite más luz al detector, de manera que los valores OD 600 son menores de lo esperado. Los resultados obtenidos comparando el OD 600 medido (ver más arriba) indican que hace falta un factor de corrección de 2,0 para que los datos sean comparables con los de instrumentos de mayor tamaño; este factor se incluye como valor predeterminado en la configuración aunque puede modificarse.

Se recomienda utilizar células desechables con un camino óptico de 10 mm de longitud para realizar mediciones de densidad óptica en soluciones de cultivo celular. Es preciso agregar glicerol a la muestra para evitar que la suspensión sedimente con demasiada rapidez y produzca un OD que varíe con el tiempo.

El procedimiento es el siguiente:

1. Pulse 2 para abrir la carpeta Ciencias Naturales (sólo Lambda Bio+).

2. Si el instrumento es un Lambda Bio, pulse 5 para abrir la carpeta OD 600.

   O BIEN

   Si el instrumento es un Lambda Bio, pulse 3 para abrir la carpeta OD 600.

Aparecerá la pantalla OD 600 - Parámetros.

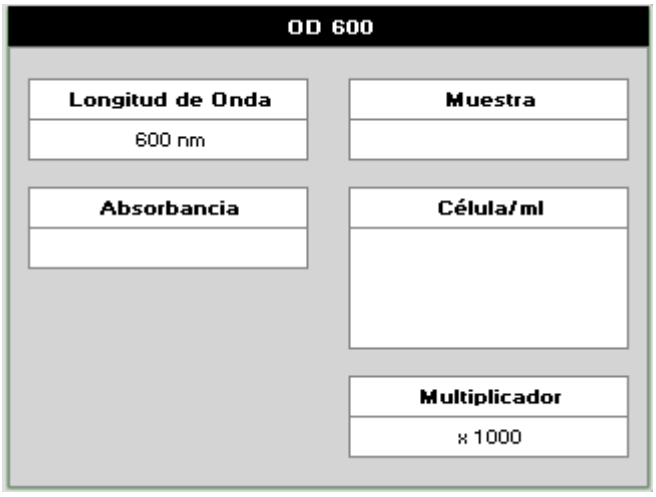
3. Establezca la **Longitud de Onda** con las teclas numéricas o las flechas izquierda y derecha y pulse a continuación la flecha abajo.
   El valor predeterminado es 600 nm.

4. Introduzca el factor de **Corrección** para compensar diferentes configuraciones ópticas entre este y otros instrumentos y a continuación pulse la flecha abajo.

5. Seleccione las **Unidades**.
   Las opciones disponibles son **OD** o **Célula/ml**.

6. Si ha seleccionado **Célula/ml**, introduzca el **Factor** utilizado (0,000–9999) y el **Multiplicador** (**× 1000** o **× 1000,000)**.

7. Pulse **OK** para iniciar las mediciones.
   Aparecerá la pantalla de resultados de OD 600.
   La pantalla de resultados de unidades **Célula/ml** es la siguiente:



8. Introduzca la muestra de referencia y pulse 0A 100%T.
   Esta medición de referencia se utilizará para todas las muestras posteriores hasta que se repita.

9. Introduzca la primera muestra y pulse ▶.
   Se mostrarán los valores de longitud de onda, absorbancia y OD 600 o Célula/ml.

10. Repita el paso 10 para cada muestra.

- Pulse la tecla para mostrar las opciones disponibles, que puede seleccionar con los números del teclado:

1	Parámetros	Vuelve a la pantalla Parámetros del método.
2	Imprimir	Imprime a través del método seleccionado.
7	Número de Muestra	Agrega un prefijo al número de muestra y restaura el número incrementable en el valor deseado.
8	Salvar el Método	Utilice las flechas izquierda y derecha para seleccionar una carpeta para guardar el método (Favoritos/Método 1–9) y a continuación pulse la flecha abajo y escriba el nombre del método. Pulse **Salvar** ▶ para salvar el método.
9	Impresión Automática	Activa y desactiva la impresión automática.

- Pulse la tecla o la tecla ■ o espere 20 segundos para salir de las opciones del método.

- Pulse ■ para volver a la página de inicio.

Accesorios

Accesorios y consumibles

Pueden realizarse pedidos de suministros, accesorios y repuestos directamente a PerkinElmer. Para más información, visite la página web de PerkinElmer en la dirección http://www.perkinelmer.com.

Número de pieza	**Accesorio/Consumible**
L7110230	Módulo de impresora Lambda Bio/XLS
L7110231	Utilidad y cable de impresión Lambda Bio/XLS
L7110232	Papel de impresora de repuesto Lambda Bio/XLS (20 rollos)
L7110233	Accesorio Bluetooth Lambda Bio/XLS

PerkinElmer también dispone de una gama de células y microcélulas adecuadas para el instrumento Lambda Bio/Bio+.

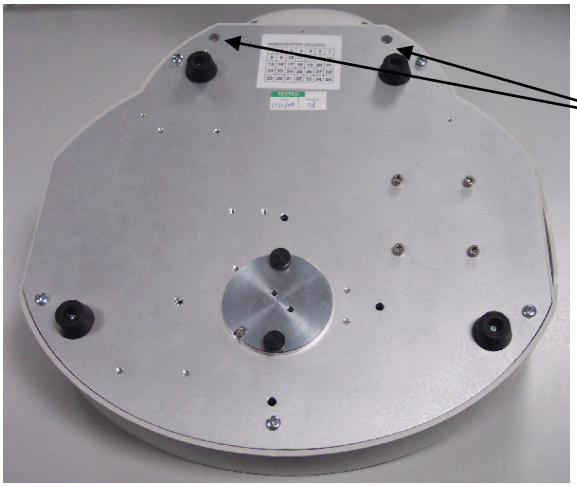
Instalación y configuración de la impresora

La impresora (L7110230) es un accesorio opcional que permite imprimir datos a medida que se procesan las muestras directamente desde el instrumento.

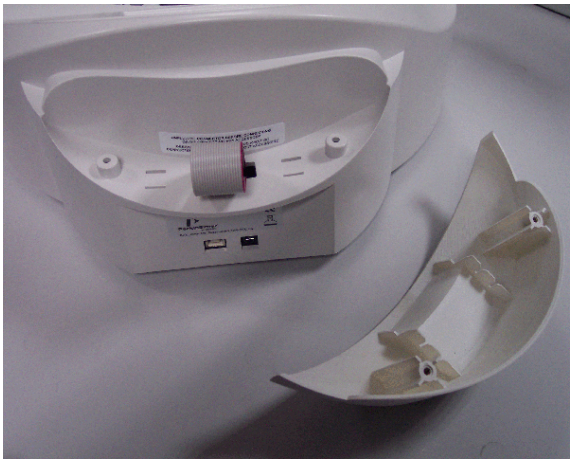
Instalación de la impresora

1. Desconecte la fuente de alimentación y el cable de corriente.

2. Invierta el instrumento y retire los dos tornillos de caperuza utilizando la llave hexagonal de 3 mm incluida.

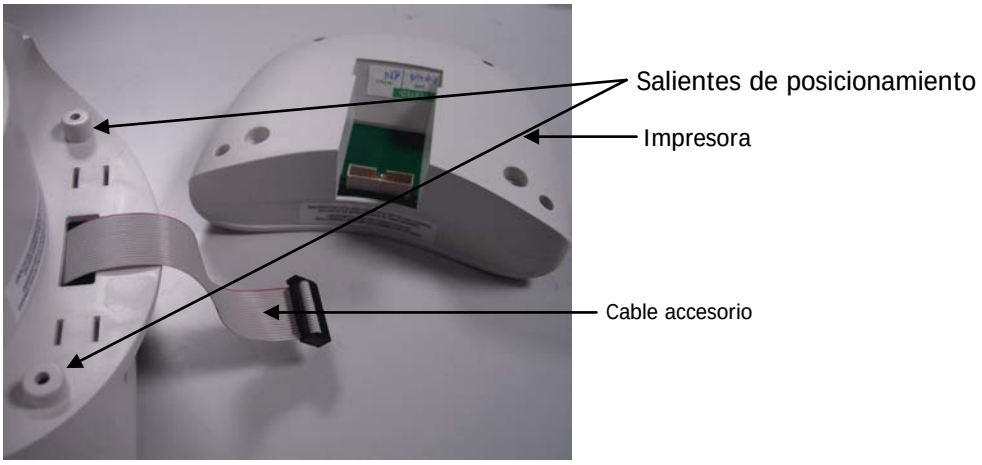


3. Vuelva a dar la vuelta al instrumento y levante la cubierta del accesorio verticalmente para quitarla. Quite el sujetacables.



4. Invierta la posición del instrumento y vuelva a poner los tornillos de caperuza.

5. Enchufe el cable accesorio a la impresora.



6. Coloque la impresora sobre los salientes de posicionamiento y presione con firmeza.
7. Vuelva a conectar el cable de corriente.

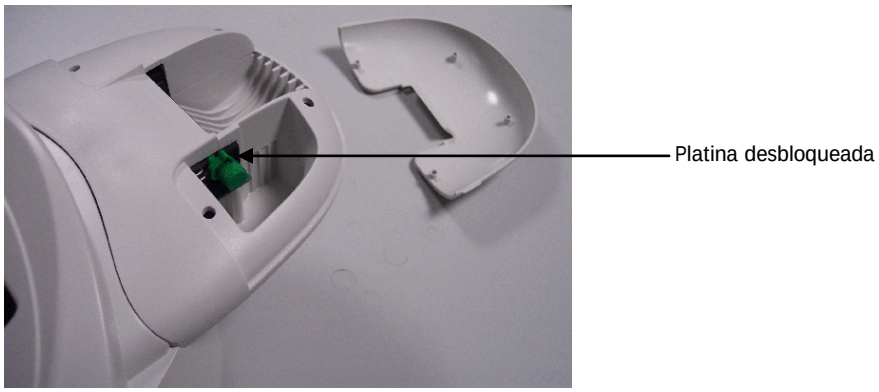
Configuración de la impresora

1. Conecte el instrumento y abra la carpeta Utilidades.
2. Pulse 3 para abrir la carpeta Impresora.
3. Seleccione la opción **Interna** en el campo **Impresora** utilizando las teclas de flecha.

4. Pulse **OK** para salvar los ajustes.

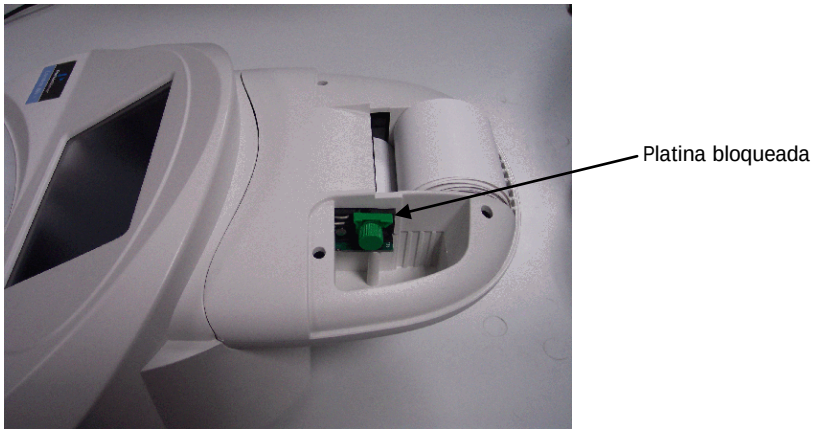
Colocación o cambio del papel de impresora

1. Levante la cubierta del papel.



2. Bloquee la platina y gire el botón para alimentar el papel.

3. Alimente el papel.
   A veces puede resultar conveniente desbloquear la platina.

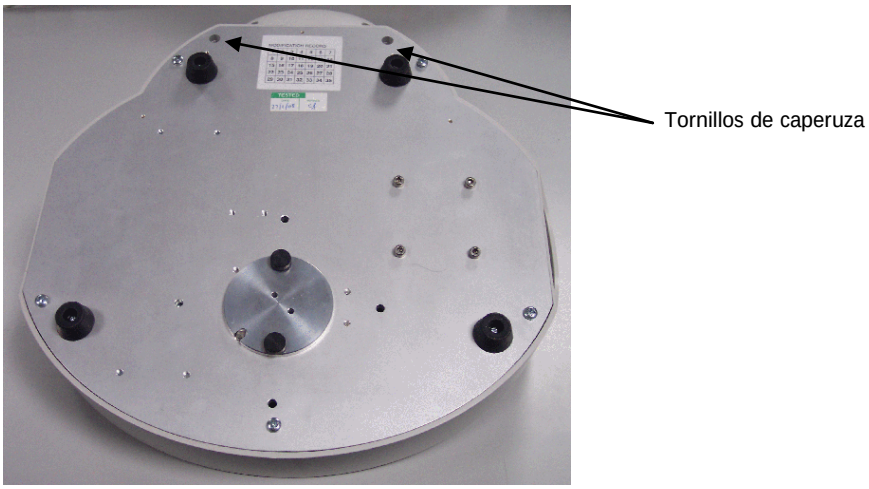


4. Vuelva a poner la cubierta.

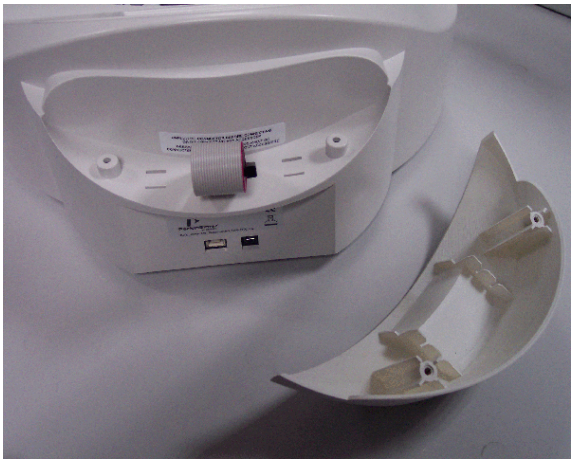
Instalación del accesorio Bluetooth

1. Separe el cable de corriente del instrumento.

2. Invierta el instrumento y retire los dos tornillos de caperuza utilizando la llave hexagonal de 3 mm incluida.

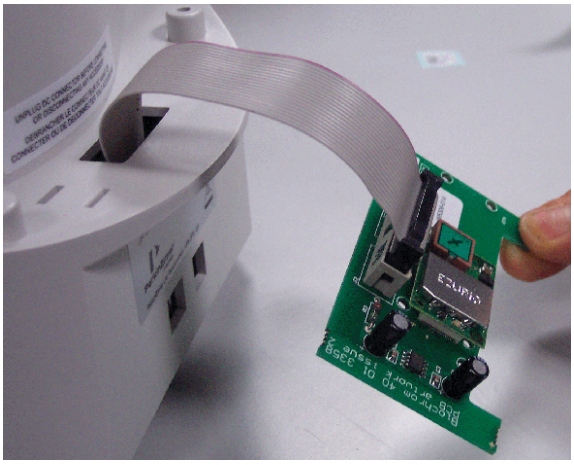


3. Vuelva a dar la vuelta al instrumento y levante la cubierta del accesorio verticalmente para retirarla.



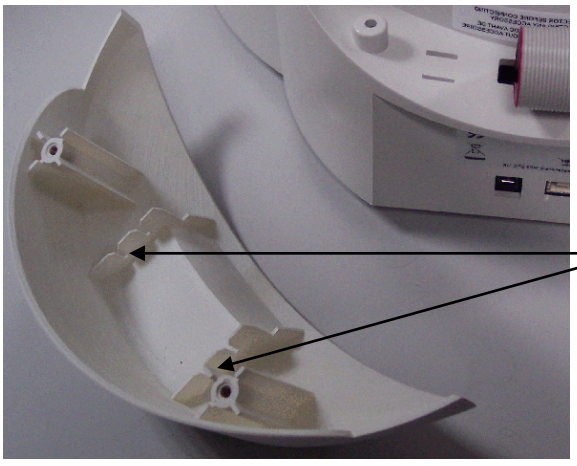
4. Quite el sujetacables.

5. Enchufe el cable accesorio al módulo Bluetooth.



6. Introduzca las dos lengüetas del módulo Bluetooth en las ranuras interiores de la base de la carcasa.

7. Coloque la cubierta verticalmente sobre el instrumento encajando el circuito impresor en las ranuras interiores de la cubierta.



8. Invierta el instrumento y vuelva a poner los dos tornillos de caperuza.

9. Conecte el cable de corriente.

10. Conecte el instrumento y abra la carpeta Utilidades.

11. Pulse 3 para abrir la carpeta Impresora.

12. Seleccione la opción **Ordenador (Bluetooth)** en el campo **Impresora** utilizando las teclas de flecha.

13. Pulse **OK** para salvar los ajustes.

Utilidad de impresión Lambda Bio/XLS

La utilidad de impresión Lambda Bio/XLS comprende dos aplicaciones de software.

La Utilidad de Informes Lambda Bio/XLS es una aplicación que se ejecuta por separado en Windows XP y que permite la conexión a través de un cable USB al ordenador en el que se encuentra instalado el software. Se pueden conectar varios instrumentos a la vez. Una vez enviados los datos al ordenador, estos se pueden imprimir directamente en la impresora conectada al mismo o se pueden guardar. La Utilidad de Informes puede almacenar datos en un directorio común o configurarse para guardar estos en directorios independientes tanto por formato de archivo como por conexión. Puede guardar datos en un archivo gráfico Enhanced Metafile (.emf), en un archivo de datos delimitados por comas (.csv), en un archivo de datos delimitados por tabulaciones (.txt) o en un archivo Excel, o en el formato de la utilidad de impresión (.pvc) para visualizarlos con el Visor de Informes Lambda Bio/XLS.

NOTA: También existe una impresora interna disponible para el instrumento, que se suministra preinstalada o como accesorio opcional (L7110230).

Si dispone de esta opción, consulte la *Lambda Bio/XLS Print Utility* (Guía del usuario de la Utilidad de Impresión Lambda Bio/XLS) (L6050015) que se encuentra en el *Lambda Bio/XLS User Manuals CD* (CD de Manuales de Usuario Lambda Bio/XLS) (L6050018) para más información.

Mantenimiento

Mantenimiento general

ADVERTENCIA

Ajustes y reparaciones no autorizados

No intente realizar ajustes, sustituciones o reparaciones en este instrumento. Este instrumento no tiene piezas susceptibles de mantenimiento por el usuario. Si tiene algún problema, consulte la Guía de localización de averías en la página web de PerkinElmer y siga sus indicaciones:

http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport

Si no tiene acceso a la Guía de localización de averías o tiene algún otro problema, póngase en contacto con Atención al Cliente (ver Apéndice 2: Contacto con Atención al Cliente en la página 123 para más información).

PRECAUCIÓN

Antes de utilizar procedimientos de limpieza o descontaminación diferentes a los aquí especificados, el usuario deberá consultar con Atención al Cliente si el procedimiento propuesto puede dañar el equipo.

Limpieza del instrumento

Limpieza exterior

Desconecte el instrumento y el cable de corriente antes de limpiar el aparato.

Limpie el exterior del instrumento con un paño húmedo. Si es necesario, puede utilizar un detergente líquido que no sea muy agresivo. Realice siempre una prueba en una pequeña superficie de una zona poco visible del instrumento antes de proceder a limpiarlo en su totalidad.

En caso de derrame, limpie todos los materiales afectados inmediatamente y séquelos con un paño o papel sin pelusas.

Extracción del portacélulas para su limpieza

El portacélulas de muestras puede ser extraído para su limpieza:

1. Afloje los tornillos de palomilla que lleva la cubierta del portamuestras en la base del instrumento girándolos en el sentido contrario al de las agujas del reloj.

   Los tornillos de palomilla permanecen unidos a la placa.

2. Saque el portamuestras del instrumento.

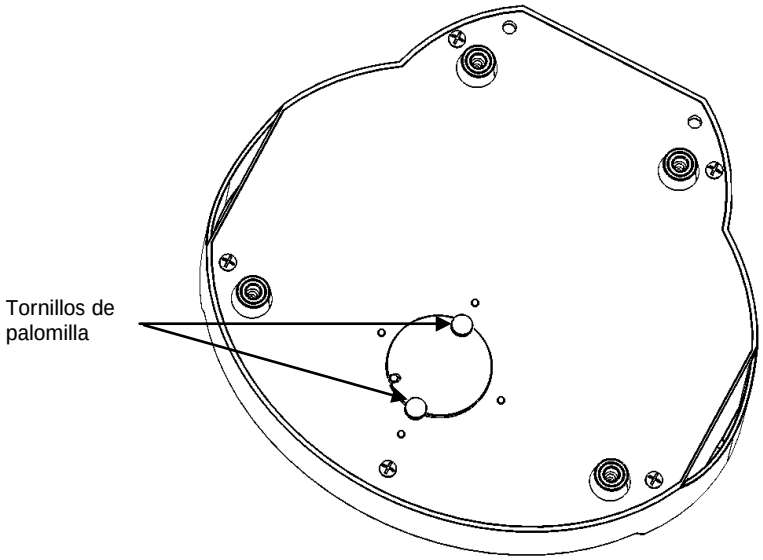


Figura 14 Posición de los tornillos de palomilla del portacélulas

Almacenamiento y transporte

Este aparato debe almacenarse o transportarse en su embalaje original, el cual debe ser conservado para este fin. El aparato debe conservarse dentro de su embalaje en un lugar seco y sin condensación, sin polvo ni suciedad, a una temperatura de −10 a 50 °C.

Si tiene que devolver el instrumento a PerkinElmer, deberá obtener un certificado de descontaminación antes de enviar el instrumento. Los certificados de descontaminación se pueden obtener de PerkinElmer. La Guía de localización de averías, que explica el proceso de devolución, se puede consultar en la dirección:

http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport

Si no tiene acceso a la Guía de localización de averías, puede ponerse en contacto con Atención al Cliente (para más información ver *Apéndice 2: Contacto con* Atención al Cliente en la página 123).

Antes de devolver el instrumento será responsabilidad del usuario realizar las correspondientes evaluaciones de riesgos y, en su caso, los procedimientos de descontaminación necesarios.

Apéndices

Apéndice 1: Especificaciones

Las especificaciones se miden con el instrumento en caliente a una temperatura ambiente constante y son las típicas de una unidad de producción. Nos reservamos el derecho de modificar las especificaciones sin previo aviso.

Especificaciones	**Lambda Bio**	**Lambda Bio+**
Intervalo de longitudes de onda	190–1.100 nm	
Intervalo de barrido de longitudes de onda	200–950 nm	
Monocromador	Rejilla plana	
Calibración de longitudes de onda	Automática cuando el instrumento está conectado	
Ancho de banda espectral	5 nm	3 nm
Precisión de la longitud de onda	±2 nm	
Reproducibilidad de la longitud de onda	±1 nm	
Fuentes de luz	Lámpara de xenon pulsada	
Detector	CCD de 1.024 elementos	
Intervalo fotométrico	de −0,300 a 2,500 A, de 0 a 199%T	
Linealidad fotométrica	±0,005 A o el 1% de la lectura, el valor que sea mayor a 546 nm	
Reproducibilidad fotométrica	±0,003 A (0–0,5 A), ±0,007 A (0,5–1,0 A)	
Luz dispersa	<1% a 220 nm y 340 nm utilizando $NaNO_2$	<0,5% a 220 nm y 340 nm utilizando $NaNO_2$
Estabilidad del cero	±0,01 A/hora después de 20 min. de calentamiento a 340 nm	
Ruido	0,005 pico a pico 0,002 rms	
Salida digital	Puerto USB estándar, Bluetooth opcional	
Medidas	340 × 310 × 170 mm (340 × 420 × 170 mm con impresora conectada)	
Peso	Aproximadamente 4,5 kg	
Potencia de entrada	100–250 V, 50/60 Hz, Máx. 30 VA	

Apéndice 2: Contacto con Atención al Cliente

NOTA: Si tiene algún problema con su instrumento, consulte la Guía de localización de averías en la página web http://www.perkinelmer.com/LambdaBioXLSSupport antes de ponerse en contacto con Atención al Cliente.

Atención al Cliente en EE.UU.:	1 00 762 4000	(En EE.UU.)
Atención al Cliente en UE:	(+1) 203 925 4602	(Fuera de EE.UU.)
Customer Care EU:	0800 0 00 66 79	(Alemania)
	0800 40 858	(Bélgica)
	800 099 164	(España)
	0805 111 333	(Francia)
	0800 90 66 42	(Italia)
	0800 896 046	(Reino Unido)
Atención al Cliente en Brasil:	11 38 68 6200	
Atención al Cliente en Canadá:	800 561 4646	(Canadá)
Atención al Cliente en China:	10 5820 8166	
Atención al Cliente en India:	022 6760 1700	
Atención al Cliente en Japón:	45 339 5889	
Atención al Cliente en Singapur:	67799 539	

Índice

A

Absorbancia/Concentración 98
Accesorios 108
Ácidos Nucleicos..... 73
  ADN..... 75
  ARN 79
  Oligo..... 82
ADN 75
Agregue Pico 51
Almacenamiento 120
Aplicaciones
  Barrido de Ondas..... 48
  Cinéticas 64
  Concentración..... 53
  Curva Estándar 58
  Longitud de Onda Múltiple..... 45
  Longitud de Onda Simple 42
  Razón de Absorbancia..... 69
ARN 79
Atención al Cliente 123

B

Barrido de Ondas 48
BCA..... 91

C

Ciencias Naturales
  Ácidos Nucleicos 73
  Determinaciones de proteínas..... 86
Cinéticas..... 64
Concentración..... 53
Consumibles 108
Contraste..... 39
Convenciones
  Notas, precauciones y advertencias..... 7
Conventions
  keyboard text 7
  on-screen text 7
  text..... 7
Cultivo de células 103
Curva Estándar 58

D

Densidad óptica 103
Descripción general del instrumento..... 20
Detección de Pico..... 50
Determinaciones de proteínas..... 86

E

Encendido y apagado 22
Escala de la Gráfica 52
Especificaciones 122

F

Favoritos 27

I

Idioma..... 36
Impresora
  colocación del papel.....111
  Configuración 110
  Configuración de impresora 37
  Instalación.....109
Instalación
  Conexión a la fuente de alimentación 17
  Desembalaje..... 16
Instalación Bluetooth.....112

L

Limpieza del instrumento.....118
Longitud de Onda Múltiple 45
Longitud de Onda Simple..... 42

M

Manipulación de las muestras 40
Mantenimiento 118
Método..... 27
  Absorbancia/Concentración..... 98
  Ácidos Nucleicos 73
  Barrido de Ondas..... 48
  Carpetas de métodos 27
  Cinéticas 64
  Concentración..... 53
  Curva Estándar 58
  Longitud de Onda Múltiple..... 45
  Longitud de Onda Simple 42
  OD 600 103
  Opciones de métodos..... 31
  Proteína 86
  Razón de Absorbancia..... 69
Métodos de proteínas
  BCA..... 91
  Proteína UV 88

O

OD 600 103
Oligo 82
Opciones 25

P

Página de inicio del instrumento 22
Pantalla 20
Pendiente 67
Preferencias 38
Proteína UV 88
Proteínas
  BCA 87
  Biuret 87
  Bradford 87
  Lowry 87
  Proteína UV 86

R

Razón de Absorbancia 69

S

Seguridad
  Desembalaje e Instalación 13
  Seguridad general 10

T

Tarjeta de memoria SD 29
Teclado 20
Transporte 120

U

Uso del software 23
Utilidad de informes 115
Utilidades 35
  Regional 36

V

Visor de informes 115

Z

Zoom 52